

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Die Bildung von Antikörpern
bei Kaninchen nach Plasmaexpandern

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Jürgen Bergholter

aus Stendal

Marburg 1968

Die Bildung von Antikörpern
bei Kaninchen nach Plasmaexpandern

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Jürgen Bergholter

aus Stendal

Marburg 1968



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg a.d.Lahn am 19.12.1968
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof.Dr. Straub
Referent: Prof.Dr. Streicher
Correferent: Prof. Dr. Schwaiger

Die Bildung von Antikörpern bei Kaninchen nach
Plasmaexpandern.

Inhaltsangabe	Seite
I. Einleitung. Der geschichtliche Weg zu den Plasmaexpandern	1
II. Die Entwicklung von Periston und Macrodex	3
III. Das Verhalten der Plasmaexpander im menschlichen Organismus	4
A. Indikation zur Gabe von Plasmaexpandern	4
B. Die Ausscheidung durch die Niere	5
C. Morphologische Untersuchungen beim Tier	7
D. Morphologische Untersuchungen beim Menschen	9
E. Zur Bedeutung der morphologischen Untersuchungen	11
F. Der Abbau von Dextran im Organismus	13
IV. Die Bildung von Antikörpern	14
V. Untersuchungen zur Funktion des RES nach der Gabe von Plasmaexpandern	16
VI. Ist eine erneute Stellungnahme heute noch berechtigt, und unter welchen Bedingungen muß sie erfolgen ?	23
VII. Antikörper gegen Transaminasen, ihre Bedeutung und immunologische Eigenschaften	26
VIII. Methodik	33
IX. Die Versuchsergebnisse	39
X. Signifikanzberechnung	46
XI. Diskussion	49
Zusammenfassung	54
Literaturverzeichnis	55



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DIE BILDUNG VON ANTIKÖRPERN BEI KANINCHEN NACH PLASMAEXPANDERN.

I. Der geschichtliche Weg zu den Plasmaexpandern.

Viele Jahrhunderte beschäftigte man sich damit, einen Ersatz für verlorenes Blut zu finden. Nachdem der Hamburger Professor für Chirurgie MAJOR eine Blutübertragung vom Menschen zum Menschen vorgenommen hatte, fand DENIS im Jahre 1667 große Beachtung, als er erstmals mit Erfolg Tierblut auf den Menschen übertrug, indem er mit einer Silberkanüle aus der Halsschlagader eines Lämmchens Blut entnahm und es in die Cubitalvene eines Menschen leitete.

Nach solchen heteroplastischen Bluttransfusionen traten jedoch ernste Zwischenfälle auf, und bereits 1668 ordnete der französische Gerichtshof an, daß jede Bluttransfusion von der Medizinischen Fakultät in Paris genehmigt werden müsse. Praktisch bedeutete das ein Verbot der Transfusionen. In den folgenden Jahrhunderten wurden nur wenige Transfusionen durchgeführt und von diesen die meisten schlecht vertragen.

Die Blutübertragung vom Lämmchen auf den Menschen, nach der Methode von DENIS, erlebte eine neue Blüte im deutsch-französischen Krieg 1870/71. Die Nebenreaktionen, wie Schüttelfröste und Hämaturie wurden als Ausdruck erneuter Reaktionsfähigkeit des kranken Organismus aufgefaßt. So benutzte man die heteroplastischen Bluttransfusionen nicht nur bei Blutverlusten, sondern auch bei Infektionen jeder Art, weil man sich von den Nebenreaktionen einen heilenden Erfolg versprach.

1883 wurde die Verwendung von Tierblut erneut von Ernst von BERGMANN verurteilt. Er hatte entdeckt,

daß der Tod bei Verblutungen schon eintrat, wenn der Mensch noch einen zum Leben ausreichenden Vorrat an roten Blutkörperchen besaß. Der Mangel an Blutflüssigkeit, das heißt an Volumen und dem sich dadurch ergebenden Mißverhältnis zwischen Gefäßweite und Gefäßinhalt, bedingt den Tod und nicht der Mangel an Erythrozyten.

Auf diese Erkenntnis bauend, konnte als erster LANDERER 1886 mitteilen, daß bei einem Menschen eine Kochsalzinfusion mit Erfolg durchgeführt wurde. Nach einer Oberschenkelamputation erholte sich ein Patient nach einer Kochsalzinfusion ausgezeichnet.

So wurde die physiologische Kochsalzlösung das beherrschende Blutflüssigkeitersatzmittel, obwohl sie nach dem Starling'schen Gesetz zu schnell die Blutbahn verläßt, da sie infolge fehlender hydrophiler Kolloide keinen onkotischen Druck ausübt.

Auch nachdem LANDSTEINER die Blutgruppen entdeckt hatte und eine Transfusion von Mensch zu Mensch gefahrloser möglich war, suchte man weiter nach künstlichen Blutflüssigkeitersatzmitteln. Sie sollten sterilisierbar, lange haltbar sein und das gleiche Wasserbindungsvermögen, die gleiche Viscosität und den gleichen kolloidosmotischen Druck wie das Plasma aufweisen. Denn bei Blutkonserven und Plasmaübertragungen bestehen gewisse Gefahren und Schwierigkeiten, wie die Übertragung von Bakterien und Viren (Lues, Serumhepatitis), Allergenen und Antikörpern (Morbus haemolyticus neonatorum). Außerdem besteht die Schwierigkeit, daß niemals sofort Blut zur Verfügung steht, denn bis das Ergebnis der Kreuzprobe bekannt ist, vergeht einige Zeit, und oft kein Spender oder keine Konserve zur Verfügung steht, wie z.B. im Kriegsfall.

So führte die Notzeit des 1. Weltkrieges, als es galt, viele Verwundete zu versorgen, zu einer Weiterentwicklung. Es wurde besonders auf englisch-amerikanischer Seite der Gummischleim zur Erhaltung des kolloidosmotischen Druckes als Zusatz zur Infusion verwandt. Da die Gummi-arabicum-Lösung nicht frei war von einer geringen Menge an Eiweiß kam es zu unerwünschten Nebenerscheinungen wie Temperaturanstieg, Schüttelfrost und Schock. Erst später gelang es durch kostspielige Reinigungsverfahren die Verträglichkeit der Lösung zu verbessern. Auch Gelatinelösung wurde verwendet, sie hatte aber den gleichen Nachteil wie die Gummi-arabicum-Lösung.

II. Die Entwicklung von Periston und Macrodex.

Durch die Untersuchungen von W. REPPE wurde die Synthese von Periston in technischem Maßstab zugänglich gemacht. Es ist ein polymerisiertes Vinylpyrrolidon. Pyrrolidon läßt sich aus Acetylen, Formaldehyd und Ammoniak gewinnen. Nach der Vinylierung wird es, unter den von REPPE geschilderten Bedingungen, polymerisiert. Es ist eine pulverförmige Substanz, die sich sehr leicht in Wasser löst, also eine große Hydrophilie besitzt, gegen Säuren beständig ist, sich gut sterilisieren läßt und keine Alterserscheinungen zeigt.

Von HECHT und WEESE wurde das Kollidon nach der pharmakologischen Prüfung 1943 in die Praxis eingeführt (18).

Bis 1952 hatte das im Handel befindliche Periston ein mittleres Molekulargewicht von 50000, heute hat es nur noch ein mittleres Molekulargewicht von 25000. Die höchstmolekularen Anteile in dem heute verwendeten Periston besitzen ein Molekulargewicht um 80000, da es nicht möglich ist, Periston von einem einheitlichen

Molekulargewicht herzustellen (nach Firmenangabe).

Zur etwa gleichen Zeit (1943) als in Deutschland HECHT und WEESE das Periston klinisch erprobten, arbeiteten in Schweden GRÖNWALL und INGELMANN (16) mit Dextran als Plasmaexpander. Es ist ein hochpolymeres, verzweigtes Polysaccharid, das beim Wachstum des Bakteriums *Leuconostoc mesenteroides* in zuckerhaltigen Medien gebildet wird. Es wird aus Glucoseeinheiten aufgebaut, wobei jedoch die 1-6-Glucosidbindungen bei den Hauptketten vorherrschen. Durch partielle Hydrolyse und Fraktionierung werden aus dem von den Bakterien erzeugtem Dextran Präparate mit begrenzter Molekulargewichtsstreuung hergestellt.

Eines der in Deutschland im Handel befindlichen Dextranpräparate hat den Firmennamen Macrodex. Es hat heute ein mittleres Molekulargewicht von 70000, die Gipfelfraktion liegt unter 120000.

III. Das Verhalten der Plasmaexpander im menschlichen Organismus.

A. Indikation zur Gabe von Plasmaexpandern.

Es wird mit Recht auf die Gefahren einer Bluttransfusion hingewiesen und vor einer kritiklosen Anwendung gewarnt. Die Plasmaexpander können eine gleichstarke onkotische Wirksamkeit wie das Plasma entfalten, es fehlt ihnen aber die spezifische Funktion der menschlichen Eiweiße, wie Puffer- und Transportfähigkeit. So ist die Hauptindikation zur Gabe von Plasmaexpandern der Volumenmangel unterschiedlichster Genese, und sie besitzen gegenüber der Blutkonserve den Vorteil, daß ihre Anwendung ohne Voruntersuchungen sofort möglich ist, und daß sie in ausreichenden Mengen zur Verfügung stehen können, wie es besonders bei Unfällen, Krieg und Katastrophenlagen dringend erforderlich ist.

B. Die Ausscheidung durch die Niere.

Da der Therapieerfolg von der Verweildauer im Gefäßsystem abhängig ist und es sich auf der anderen Seite beim Kollidon um ein völlig körperfremdes Produkt, synthetisiert aus Acetylen, Formaldehyd und Ammoniak, handelt und über einen Dextranabbau im menschlichen Organismus anfangs nichts bekannt war, interessierte das Schicksal dieser Stoffe im Organismus.

Die Ausscheidung erfolgt fast ausschließlich durch die Niere. Wie WEESE (40) mit markiertem Kollidon zeigen konnte, verteilt sich Kollidon mit einem mittleren Molekulargewicht von 12600 zunächst über alle Organe, entsprechend ihrer Durchflutungsgröße. Bei dieser Molekulargewichtsverteilung wird der größte Teil zwischen 5 und 24 Stunden mit dem Harn ausgeschieden. Nach 24 Stunden setzt die Ausscheidung durch die Galle ein, die nach drei Tagen auf Spuren absinkt, aber noch einige Tage anhält. Spuren werden auch in den Magen und in den Darm ausgeschieden. Mit dieser Methode sind noch kleinste Mengen in der Leber und in der Milz bis zu 20 Tagen nachweisbar.

Auf der Transfusionstagung in Genf 1954 berichtete H. CAMPBELL (9), daß die Durchtrittsgeschwindigkeit des Peristons durch die Nieren in umgekehrtem Verhältnis zu seinem Molekulargewicht steht. Es wurde das Molekulargewicht bei Versuchspersonen über 2 - 3 Wochen bestimmt. Dabei wurde festgestellt, daß die größte Menge in den ersten 24 Stunden ausgeschieden wird, und zwar die niedermolekularen Anteile. Später folgten die hochmolekularen Anteile mit einem Molekulargewicht bis zu 100000.

Nach Kaninchenversuchen von G. HECHT und W. SCHOLTAN (17) kann noch Kollidon mit einem Molekulargewicht

von 150000 den Glomerulusfilter passieren.

Aber nicht alle niedermolekularen Anteile werden in den ersten 24 Stunden ausgeschieden, wie R. AMMON und E. DEPNER zeigen konnten (2). Bei Periston von einem mittleren Molekulargewicht von 12600 fanden sich etwa die gleiche Menge im Urin wie bei einem mittleren Molekulargewicht von 37000. Wenn man bei der niedermolekularen Fraktion Spitzenanteile bis etwa 30000 annimmt, so dürfte das kein Grund für ein Hindernis bei der Nierenfiltration sein. AMMON und DEPNER erklärten ihre Ergebnisse damit, daß das in den ersten 24 Stunden ausgeschiedene Periston direkt aus dem Kreislauf stammt, und daß ein Teil durch das Gewebe aufgenommen wird.

G. HECHT und H. SCHOLTAN (17) erklärten diese Besonderheit durch eine Bindung von Kollidonmoleküle an Eiweiß und der damit verbundenen Störung der freien Filtrierbarkeit, da ihnen im Elektrophoreseversuch der Nachweis einer Bindung an Eiweißkörper gelang, genauer gesagt an Albumine (nicht Gamma-Globuline).

Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß die niedermolekularen Anteile fast vollständig in den ersten Tagen chemisch unverändert durch die Niere ausgeschieden werden. Besonders bei den hochmolekularen Anteilen wurde ein Defizit zwischen der infundierten und der im Urin ausgeschiedenen Menge gefunden. Für einen Abbau im Organismus gibt es beim Periston keinen Anhaltspunkt.

Es wurde durch R. STEELE und Mitarbeiter der Versuch unternommen, einen Abbau im Organismus nachzuweisen. Sie untersuchten das Kohlendioxyd der Ausatemungsluft, nachdem sie mit radioaktivem Kohlenstoff markiertes Kollidon gegeben hatten, fanden jedoch keinen radioaktiven Kohlenstoff (39).

Auch Dextran wird durch die Nieren ausgeschieden, wie L. HELLMANN (20) z.B. mit C14 markiertem Dextran zeigen konnte. Er fand 1951 innerhalb von 10 Tagen 64 % der verabreichten Dextranmenge im Urin.

C. Morphologische Untersuchungen beim Tier.

Die morphologische Forschung war von Anfang an mit an den Untersuchungen beteiligt, denn es drängt sich die Frage auf, ob und gegebenenfalls wo diese körperfremden Produkte abgelagert werden und ob es nicht eventuell zu einer Schädigung im Organismus kommen kann.

Bei der Prüfung des Kollidons, bevor sie es in die Therapie eingeführt haben, konnten HECHT und WEESE (18) keine Anlagerungen feststellen. Bei Hunden, Katzen und Kaninchen wurden in den verschiedenen Organen (Leber, Milz, Niere, Nebenniere, Herz, Lunge und Muskel) eine Stunde bis 15 Wochen nach der Peristongabe keine Schädigungen gefunden, die auf das Periston zurückzuführen wären.

Dagegen sahen RIEDEL und ZIPF (35) kurze Zeit später bei Ratten, die 10 Minuten bis 25 Stunden nach der Injektion getötet wurden, die Kupfferschen Sternzellen der Leber deutlich vergrößert. Dieser Befund wurde von ihnen mit der Speicherung des Peristonmoleküls in Verbindung gebracht.

1947 teilte BARGMANN (5) erstmals an der Milz Veränderungen mit. Bei Ratten, die über 5 Tage täglich Periston erhielten, zeigte sich eine Vakuolisierung der Reticulumzellen der roten Pulpa. Histologisch bestanden zwischen kleinvakuolären Zellen und regelrechten Schaumzellen fließende Übergänge. Gelegentlich waren auch die Kupfferschen Sternzellen vergrößert.

BARGMANN nahm an, daß die Vakuolen der Retikulumzellen Periston enthalten. Ein histochemischer Nachweis war ihm damals nicht möglich. Auffällig war, daß die Stärke der Veränderungen von der Menge des verabreichten Peristons abhängig war, d.h., je größer die Menge, um so deutlicher zeigten sich die Veränderungen.

Die unterschiedlichen Befunde beim Nachweis von Ablagerungen in den Zellen des reticuloendothelialen Systems, auch bei anderen Untersuchungen wie von AMMON und MÜLLER (3) oder von BARFUSS und EICHLER (5) erklärten FRESEN und WEESE durch den Mengen-Zeit-Faktor. Sie konnten selbst mit unphysiologisch hohen Dosen mit einem mittleren Molekulargewicht von 50000, bei einem nur eintägigen Intervall, keine Ablagerungen nachweisen. Erst nach zwei Wochen fanden sie Ablagerungen in der Milz. Nach 4 - 8 Monaten kam es zu einer unscharfen Konturierung des Kerns der Speicherzelle. Man faßte diesen Vorgang als Atrophie auf. Reaktive Gewebsveränderungen fanden sie nicht. Die Stärke der Veränderungen war auch abhängig vom mittleren Molekulargewicht. Bei einem in der Klinik nicht verwendeten Molekulargewicht von 400000 zeigten sich die ausgedehntesten Veränderungen (12).

Die Abhängigkeit der Ablagerungen vom mittleren Molekulargewicht, der Menge und der Zeit wurden durch andere Untersuchungen bestätigt, wie von BARNER (7), der gekoppeltes Eisen als Indikator verwendete, RAVIN (35), der die Moleküle mit J131 und C14 markierte oder AMMON und MOHN (4), denen der fluoreszenzmikroskopische Nachweis von abgelagerten Molekülen gelang.

Gleiche Befunde werden auch von Dextran beschrieben, auf die später kurz eingegangen werden soll.

D. Morphologische Untersuchungen beim Menschen.

Erstmals wurden beim Menschen von H. SCHÖN (38) Ablagerungen in den Kupfferschen Sternzellen nach Periston beschrieben. Er beschrieb Ablagerungen bei drei Säuglingen, die vor dem Tode einmal in 10 Tagen 660 ml, in 4 Tagen 470 ml und an einem Tag 80 ml Periston erhalten hatten. Das Protoplasma der Kupfferschen Sternzellen war schaumig, wabig und von Vakuolen durchsetzt.

Später, 1952, teilte HÜSSELMANN (22) Ablagerungen von Periston auch beim Erwachsenen mit. Frühestens 18 Tage nach der Infusion sah er Ablagerungen in den Zellen des RES. Die Ablagerungen ließen sich bis zu zwei Jahre nach der Infusion verfolgen. Ganz vereinzelt, in Form von kleinzelligen, meist lymphozytären Infiltraten fand HÜSSELMANN auch reaktive Gewebsveränderungen, die vorher im Tierversuch nicht beschrieben waren.

E.A. GALL und Mitarbeiter (14) entnahmen bei 22 Patienten vor der Periston-Infusion und nach der Infusion, in einer Zeit bis zu 13 Monaten, Leberproben. Selten vor 3 Monaten, regelmäßig nach etwa 6 Monaten waren kugelige Ablagerungen in der Leber nachzuweisen, die vornehmlich in den Kupfferschen Sternzellen lagen.

Bevor sich das Polyvenylpyrrolidon (PVP) histologisch nachweisen läßt, vergeht eine bestimmte Latenzzeit von Tagen, bzw. von Wochen nach der Infusion. HÜSSELMANN erklärt diese Tatsache durch die PVP-Eiweißadsorption im Sinne von Coacervatbildungen, die zunächst labil und flüssig seien, sodaß das PVP bei der Fixation und Färbung herausgelöst wird. Er nahm an, daß es erst nach Tagen oder Wochen zu einer Denaturierung des Plasmaeiweißes und zu einer Erstarrung des Coacervates kommt, sodaß erst nach diesem Vorgang die Möglichkeit besteht, das geronnene Produkt in der Speicherzelle anzufärben.

Diese Untersuchungen stammen zum größten Teil aus der Zeit, als noch Periston mit einem mittleren Molekulargewicht von 50000 verwendet wurde. Da aber die Speicherung unter anderem auch vom mittleren Molekulargewicht abhängig ist, sind diese Arbeiten, die Anlaß dafür gaben, von einer Blockade des RES nach Periston zu sprechen, für das heute verwendete Kollidon mit einem mittleren Molekulargewicht von 25000 nicht mehr ganz zutreffend, denn der Anteil an dem hochmolekularen PVP von 80000 ist sehr gering.

So kommt es nach Kaninchenversuchen von HECKNER und GEHLMANN (19) bei der Verwendung von Periston N mit einem mittleren Molekulargewicht von 12500 zu keinen Ablagerungen in den Zellen des RES.

Auch über das Dextran wurde bei morphologischen Untersuchungen über Ablagerungen in den Zellen des RES berichtet, aus denen die Schlußfolgerung gezogen wurde, daß es durch die Ablagerung der hochmolekularen Dextranmoleküle zu einer funktionellen Schädigung des retikuloendothelialen Systems kommen kann.

Man findet Dextran in den ubiquitär im Organismus verteilten Bestandteilen des RES im engeren und weiteren Sinne. Bereits kürzere Zeit nach der Zufuhr läßt es sich nicht nur in den regionalen, sondern auch in zahlreichen anderen Lymphknoten nachweisen. Auch in der Milz und in den Kupfferschen Sternzellen werden Dextranablagerungen gefunden.

Nach der i.v.-Injektion gelangt es zuerst in die Lunge. Dieses Organ enthält reichlich Anteile des RES, und so gilt auch hier dasselbe, wie bei allen übrigen Organen (29).

E. Zur Bedeutung der morphologischen Untersuchungen.

Ausführlich geht J. LINDNER auf die aus den morphologischen Befunden gezogenen Rückschlüsse in seinem Vortrag, den er anlässlich der Arbeitstagung der Deutschen Gesellschaft für Anaesthesie im Januar 1963 in Frankfurt gehalten hat, ein (29).

Er vertritt die Ansicht, daß es nicht richtig sei, von einer Speicherung, Blockade oder gar von einem Polymerkrebs zu sprechen, wie es von anderen Autoren an Hand der morphologischen Befunde angenommen wird, sondern meint, daß die Vorstellung einer Blockade nur ein typisches Scheinproblem im Rahmen der Plasmaexpanderforschung ist.

J. LINDNER geht in seiner Einführung auf die Schwierigkeiten beim morphologischen Nachweis von Plasmaexpandern ein. Zur Histochemie erwähnt er, daß durch Färbeverfahren in den seltensten Fällen nur eine Stoffkomponente angefärbt wird, und daß nicht der Plasmaexpander allein, sondern Produkte, entstanden im Rahmen der histologischen Gewebszubereitung, aus den intravitalen Coacervatbildungen und Entmischungsvorgängen im Cytoplasma und außerdem z.T. nicht bekannte Strukturen und Makromoleküle angefärbt werden.

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung meint er, daß es häufig unmöglich oder einfach falsch sei, aus einem Bild, das nur etwa ein Hundertstel der Zelle darstellt, Rückschlüsse über den funktionellen Zustand der Zelle zu ziehen, wie es häufig geschehen sei. Und so warnt er vor der Überbewertung morphologischer Einzelbefunde.

Weiter führt LINDNER aus, daß man beim Nachweis von Plasmaexpandern in der Zelle nicht von vornherein eine Schädigung der Zelle unterstellen darf, denn

nach der Phagozytose hängt das weitere Schicksal der Zelle von verschiedenen Faktoren ab. Er vertritt die Ansicht, daß diese Aufnahmevorgänge nicht als Speicherung zu bezeichnen sind. Von einer echten Speicherung ist nur dann zu reden, wenn phagozytierte Makromoleküle längere Zeit intra- oder extracellulär abgelagert werden. Denn an jedem aufgenommenen Stoff werden intracelluläre Verdauungsversuche durchgeführt. Unverdaubare Materialien werden kürzere oder längere Zeit in Bläschen des endoplasmatischen Retikulums zurückgehalten, entweder zu Cytosomen transformiert, in der Regel aber abgegeben, entweder durch Ausstoßung aus dem Zelleib oder durch Untergang der Zelle selbst.

Auch widerspreche die, aus den alten Farbstoff-Speicherversuchen stammende Annahme der sogenannten Blockade des RES gerade der spezifischen Arbeitsweise des RES, denn jeder Anreiz zu einer Stoffaufnahme bewirkt zunächst eine Proliferation der reticulären und endothelialen Zellen. Auf Anforderung erfolgt eine beliebige Vermehrung und Erweiterung des RES und bei reichlicher Gabe von Plasmaexpandern ist einerseits nur ein Bruchteil des RES mit der Stoffaufnahme beschäftigt, und andererseits führt eine sofort einsetzende Proliferation zu einer nicht unbeträchtlichen Vermehrung der Einzelzellen und somit der Gesamtheit des RES. So sieht er im Tierversuch nur dann Sternzellproliferationen, wenn Plasmaexpander in klinisch völlig ungebräuchlichen Mengen und wiederholten Gaben über längere Zeiträume appliziert werden. Immer ist der größte Teil des RES frei von Ablagerungen, auch bei hochgradiger Anreicherung. LINDNER beobachtet sogar durch diese Anforderungen an das RES gewisse Funktionssteigerungen, die morphologisch in dem Proliferationsreiz und in der Modulation der reticulo-histiocytären Zellen in den verschiedenen Funktionsstadien zum Ausdruck kommen.

Weiterhin handelt es sich um reversible Veränderungen, eine echte Speicherung oder Restbefunde konnte er sowohl beim Macrodex, als auch beim Periston nicht feststellen.

E. Der Abbau von Dextran im Organismus.

Im Gegensatz zum Polyvinylpyrrolidon wird Dextran im Organismus abgebaut. Dafür sprach die Feststellung, daß nach der Infusion von C14-markiertem Dextran in der ausgeatmeten Luft radioaktives CO₂ und im Urin C14-Glukose nachzuweisen sind (20). Die durch C14 markierte Dextranmenge wird zu 92 % innerhalb von 10 Tagen ausgeschieden, und zwar zu 64 % im Urin, zu 26 % als CO₂ in der Atemluft und ungefähr 2 % in den Faeces.

Dextran ist für den Menschen kein fremder Stoff. Der Streptococcus salivarius aut hominis der Mundhöhle bildet unter anderem auch Dextran, das durch Bakterien im menschlichen Darm abgebaut wird.

Als erster fand INGELMANN eine Dextranase im Cellvibrio fulva, HULTIN und NORDSTRÖM stellten dieses Ferment in Schimmelpilzarten fest. KOBAYASHI untersuchte diese Schimmelpilz-Carbohydase genauer und stellte einen Abbau des Dextrans von 50 - 60 % zu Isomaltriose und Isomaltose fest. In den Bakterien des menschlichen Darms fanden SERY und HEHRE ebenfalls eine Dextranase. Aber erst ROSENFELD und LUKOMSKAYA wiesen in einer Reihe von Geweben von Säugetieren (Ratten, Kaninchen, Hund und Rind) ein dextranspaltendes Ferment nach (Aus R. AMMON: Das Vorkommen von Dextranase im menschlichen Gewebe).

Auch im menschlichen Gewebe (Milz, Leber und Niere) wurde von R. AMMON ein dextranspaltendes Ferment mit einem pH-Optimum von 4,8 gefunden.

Das Vorkommen dieser Dextranase, die auch Dextrane mit sehr viel höherem mittleren Molekulargewicht, die nicht mehr in der Therapie Verwendung finden, spalten kann, macht verständlich, daß solche Polysaccharide nur so lange im menschlichen und tierischen Organismus verbleiben, bis sie weiter abgebaut, bzw. bis die Zwischenprodukte für den intermediären Stoffwechsel weiter verwendet werden (1).

IV. Die Bildung von Antikörpern.

Unter einem Antigen versteht man einen Stoff, der die Fähigkeit besitzt, die Bildung von Antikörpern im Warmblüterorganismus anzuregen und mit diesen spezifisch zu reagieren. Das Reaktionsprodukt bestimmter Zellen auf die Antigenwirkung ist also der Antikörper. Ihm ist keine stoffliche Einheit zuzuschreiben, er ist komplex aufgebaut. Die chemische Analyse ergab eine gute Übereinstimmung mit den Gamma-Globulinen, deren Synthese unter der Einwirkung des Antigens eine, mit chemischen Methoden bisher noch nicht nachweisbare, Umwandlung erfährt. Das Ergebnis dieser Modifikation ist die Entstehung bestimmter Gamma-Globuline mit immunologischer, gegen das induzierte Antigen gerichteter Spezifität. Es werden unterschieden: präcipitierende Antikörper (Agglutine, Antitoxine, Lysine, Opsonine) und nicht präcipitierende Antikörper (Reagine, blockierende Antikörper). Antikörper besitzen in der Regel eine hohe Spezifität, insbesondere dann, wenn sie durch Antigene mit seltenen determinanten Gruppen hervorgerufen werden. Es kommen aber auch heterologe Antikörper vor, die mit verschiedenen Antigenen ähnlicher Konstitution Immunreaktionen eingehen können.

Die Zellen, die bei der Antikörperbildung eine Rolle spielen, gehören alle dem Mesenchym an. Für die Antikörperbildung hat man davon in Betracht gezogen die Retikuloendothelien, die Lymphknoten und die Plasmazellen. Entsprechend sind drei Theorien über die Stätten der Antikörperbildung entstanden, nämlich die retikuloendotheliale Theorie, die lymphatische Theorie und die plasmazelluläre Theorie (21).

In die Zellen des RES hat man die Antikörperbildung auf Grund der von METSCHNIKOW gefundenen Tatsache, daß die Zellen des RES antigenes Material aufnehmen, verlegt, um so mehr, als gewisse Versuche zu zeigen scheinen, daß die künstliche Verstopfung dieser Zellen die Antikörperbildung hemmt (BARFUSS und EICHLER).

Das RES stellt ein, von seiner Leistung her definiertes, Zellsystem dar und besitzt nur morphologisch die Gemeinsamkeit der retikulären Struktur. Es umfaßt:

1. Die Uferzellen des Blutstroms, aber vorwiegend diejenigen der Milz, der Leber, des Knochenmarkes und der Nierenglomeruli.
2. Die Uferzellen des Lymphstromes.
3. Die Retikulumzellen des sogenannten retikulären Bindegewebes.

Eine scharfe begriffliche Abgrenzung des Systems ist nicht möglich, denn im Bedarfsfalle treten auch noch andere Zellsysteme, die sonst nicht phagozytieren, in den Dienst zur Reinigung von parenteral eingeführten Fremdkörpern, wie z.B. von Tusche, vor allem das undifferenzierte retikulär angeordnete Mesenchym, welches ubiquitär im Organismus verbreitet ist (2).

V. Untersuchungen zur Funktion der RES nach der Gabe von Plasmaexpandern.

Durch die morphologischen Untersuchungen entstand der Verdacht, daß die Ablagerungen der Plasmaexpander in den Zellen des RES zu einer Beeinträchtigung der Funktion des RES in seiner Gesamtheit, also zu einer Hemmung der Antikörperbildung führen könne.

Da AMMON und DEPNER histologisch gelegentlich amyloidartige Ablagerungen sahen, vermuteten sie, daß die PVP-Globulinverbindung, welche nach der Applikation in der Blutbahn entsteht, ein Paraglobulin sein könnte, sodaß durch übergroße PVP-Gaben ein amyloidartiges Praecipitat entsteht. So dachten sie an die Möglichkeit, daß gleichzeitig auch die Funktion des RES gestört werden könnte und nicht nur seine Antikörperbildung herabgesetzt, sondern auch die Bildung von normalem Plasma-eiweiß behindert werden könnte.

Wie oben erwähnt, ist die Ablagerung in den Zellen des RES im engeren und weiteren Sinne um so stärker, je höher das mittlere Molekulargewicht ist. Eine beliebige Senkung des mittleren Molekulargewichtes ist aber nicht möglich, da die Verweildauer im Kreislauf und damit der Therapieerfolg in direktem Verhältnis zur Höhe des Molekulargewichtes steht.

Da eine mögliche Hemmung oder Blockade des RES ein entscheidender Nachteil der Plasmaexpander wäre, versuchte man durch experimentelle Arbeiten zur Funktion des RES diese Frage zu klären.

DIECKHOFF (10) schreibt 1954 zu diesem Problem:
Wenn auch das reaktionslose Vertragen selbst hoher Kollidongaben von seiten der Klinik immer wieder hervorgehoben wurde und pathologisch-anatomisch keine

irreversiblen Organveränderungen zu einer Kontraindikation für wiederholte Peristoninfusionen Anlaß geben, mußte doch dahingestellt bleiben, ob nicht doch funktionell eine Schädigung der speichernden Zellen, insbesondere des RES hervorgerufen wird.

Außerdem schreibt er in seiner Arbeit: BARFUSS und EICHLER nahmen eine, mit Kongorot feststellbare, vorübergehende Blockade des RES nach Peristongaben an, fanden aber keine Verzögerung der Phagozytose injizierter Staphylokokken.

Ähnliche Sätze sind auch bei anderen Autoren zu finden, wie z.B. bei AMMON und DEPNER (2).

Was hatten BARFUSS und EICHLER mitgeteilt ? (1949 (5))
An etwa 100 Tieren wurde geprüft, ob Periston bei übermäßiger Zufuhr im chronischen Versuch zu irgendwelchen Schädigungen Anlaß gibt. Sie verwendeten Kolli-
don von einem mittleren Molekulargewicht von 25000 und verabfolgten über 3 Monate bis zu 100 gr pro kg Körpergewicht. Nach einmaliger Gabe, vermehrt nach wiederholter Zufuhr, zeigte sich nach ihrer Meinung eine Blockade des retikuloendothelialen Systems, indem Kongorot langsamer aus dem Blut verschwindet. Fünfzig Stunden nach einer einmaligen hohen Dosis ist der größte Teil des injizierten Kongorots aus dem Kreislauf verschwunden, entsprechend der Zeit, in der das Periston im Körper bleibt. Die Möglichkeit, daß das Kongorot im Kreislauf durch das Periston zurückgehalten wird, begegnen sie mit dem Hinweis: "Es kann sich nicht etwa darum handeln, daß das Kongorot nach dem Befund von BENNHOLD adsorbiert und im Blut zurückgehalten wird, denn Periston hatte gegenüber Gela~~x~~atine einen embatischen Effekt, also begünstigt das Eindringen." (...in Gela~~x~~atine! Aber auch in die Zellen des RES ?)

Daß das Kongorot doch durch das Periston im Kreislauf zurückgehalten werden könnte, ergibt sich sogar aus ihren Versuchsergebnissen, daß der Nachweis von Kongorot im Kreislauf im selben Maße absinkt, wie das Periston aus dem Kreislauf ausgeschieden wird.

Weiter beschreiben sie, daß, wenn man bei maximaler Blockade Staphylokokken injiziert, sich trotzdem eine normale Geschwindigkeit der Phagozytose der injizierten Staphylokokken zeigt. Dieser Befund erschien BARFUSS und EICHLER besonders wichtig, weil damit nach ihrer Meinung zugleich erwiesen war, daß ihr Nachweis einer Blockade des Retikuloendothels gegenüber Kolloiden im Kongorot durchaus nicht eine Schädigung der Phagozytose bedeuten würde !

Sie finden weiterhin eine geringe Erniedrigung der normalen Bilirubinwerte nach der Peristoninfusion. "Da Bilirubin wesentlich vom Retikuloendothel gebildet wird, werden wir in diesen Werten einen weiteren Hinweis auf eine gewisse Hemmung dieses Zellsystems erblicken." Sie fanden den Abbau der Phenylbenztraubensäure normal und schreiben zur Erniedrigung der Bilirubinwerte weiter: "Dieses kann bedingt sein durch eine Störung des Retikuloendothels, die man aber nicht als nachteilig auffassen muß."

Man kann die Erniedrigung der Bilirubinwerte aber auch anders deuten. MARTIUS und PREDIGER (30) behandelten erythroblastotische Neugeborene mit Periston N. Es kam dabei zu einer schnelleren Bilirubinausscheidung durch die Niere.

Nachdem BARFUSS und EICHLER auf die enorm hohe Dosis an Periston hingewiesen hatten, schrieben sie in ihrem Schlußsatz: "So ergaben unsere Versuche, daß selbst hohe Dosen keinen Dauerschaden nach sich ziehen, daß also die in der Therapie beim Menschen üblichen Mengen bedenkenlos gegeben werden können."

Trotz dieser Schlußfolgerung, trotz ihrer zum Teil vorsichtigen Ausdrucksweise, obgleich man die Versuchsanordnung mit Kongorot nicht widerspruchsflos hinnehmen kann, die Erniedrigung der Bilirubinwerte anders zu deuten sind und insbesondere keine Verzögerung in der Phagozytose injizierter Staphylokokken nachzuweisen war, wurde aus ihrer "Blockade gegenüber Kolloiden im Kongorot" eine "Blockade durch Kollidon"!

H. FRIMMER (13) arbeitete einen RES-Clearancetest aus und untersuchte damit die Funktion des RES nach Bluttransfusionen, Infusionen von arteigenem Plasma, von artfremdem Serum, von desantigenisiertem artfremdem Serum (Adequan), Dextran (Onkotin) und PVP (Periston).

Er hatte zeigen können, daß die Blockade des RES mit Tusche in Abhängigkeit von der injizierten Tuschemenge, zu einer Verlängerung der Eliminationshalbwertszeit (EHZ) von dem mit P-32-markiertem Kalium-Natrium-Polyphosphat (PP) führt. Wenn also bei den zu untersuchenden Blutflüssigkeitsersatzmitteln eine Blockade des RES eintritt, müßte dies folgerichtig im Clearancetest zu einer signifikanten Verlängerung der EHZ führen.

Die Versuche wurden an Hunden nach einer einmaligen Infusion der zu untersuchenden Substanz durchgeführt. So betrug der Anstieg der EHZ nach Adequan am ersten Tage bis zu 448 %, bei PVP einmal 229 % und einmal 129 % und beim Dextran zwischen 52 % und 162 % gegenüber dem Normalwert (= 100 %) und auch dem Wert nach Bluttransfusionen. Beim Dextran liegt das Maximum der Erhöhung der EHZ nicht am ersten Tag, sondern am zweiten Tag. Es wird damit erklärt, daß Dextran noch einige Tage nach der Infusion im strömenden Blut kreist, und so die Elimination durch das RES am ersten Tage noch nicht ihr Maximum erreicht haben kann.

Gerade diese Arbeit wird in der späteren Literatur immer wieder erwähnt, wenn von einer Hemmung oder Blockade des RES durch Periston oder Makrodex gesprochen werden soll.

Dazu ist zu bemerken, daß FRIMMER beim Periston nur zwei und beim Dextran nur vier Versuchstiere benutzte, bei denen er nach einer einmaligen Infusion der zu untersuchenden Substanz über eine Zeit von 12 Tagen die EHZ bestimmte. Außerdem benutzte er damals den dextranshaltigen Plasmaexpander Onkotin, der heute nicht mehr verwendet wird, da er gerade wegen seiner ungünstigen makromolekularen Eigenschaften, im Gegensatz zu dem im **Macrodex** verwendeten Molekulargewichten, nicht nur im RES zu verschiedenen nachteiligen Gewebsreaktionen führte. Eine Angabe zum mittleren Molekulargewicht von dem verwendeten Onkotin fehlt in der Arbeit, ebenso wie eine Angabe zum mittleren Molekulargewicht des verwendeten Peristons. Falls man annimmt, daß das handelsübliche Periston verwendet wurde, könnte er damals eventuell ein Periston mit einem mittleren Molekulargewicht von 50000 verwendet haben. Alle Ergebnisse sind aber nur unter der Berücksichtigung des mittleren Molekulargewichtes richtig zu beurteilen.

FRIMMER selbst bezeichnet jeden Anstieg der EHZ in seiner Arbeit als Blockade. So schreibt er zum Periston wörtlich: "Die durch das Periston verursachte Blockade ist verhältnismäßig geringfügig." Beim Dextran (Onkotin) erwähnt er das Wort Blockade nur in dem Satz: "Beim Dextran liegt das Maximum der Blockade nicht am ersten Tag, sondern später."

Genau wie BARFUSS und EICHLER verwendet FRIMMER unglücklicherweise das Wort Blockade, obwohl man unter diesem Wort eine vollständige Abriegelung, eine Isolierung, eine Unterbrechung versteht. Das kann man

aber aus ihren Versuchsanordnungen nicht entnehmen, und man hat, nachdem man die Arbeit gelesen hat, auch nicht den geringsten Eindruck, daß das von den Autoren ausgedrückt werden sollte.

Und trotzdem sprach man auf Grund dieser Arbeiten, auch nachdem das mittlere Molekulargewicht sowohl beim Periston, als auch beim Macrodex gesenkt worden war, von einer Blockade des RES nach Plasmaexpandern.

Auch andere Autoren beschäftigten sich mit diesem Problem. So konnten FRESEN und WEESE (12) keine Blockierung des RES für das Periston durch Tuscheapplikation feststellen. Auch durch Umkehrung des Versuches bei Anwendung von hochmolekularem Periston war eine funktionelle Blockade der Retikulumzellen für Tusche nicht nachzuweisen.

1954 beschrieb DIECKHOFF (10) Versuche an Kaninchen. In Abständen von je fünf Tagen erhielten die Kaninchen zweimal 25 ccm Periston-N pro kg Körpergewicht. In der Mitte zwischen zwei Injektionen wurden die Tiere mit einer Typhusbakterienaufschwemmung immunisiert und später der Agglutinationstiter nach Gruber-Widal bestimmt. Zu einer Kontrollgruppe ohne Periston-N-Injektionen zeigte sich kein Unterschied im Anstieg der Titer. Gleiche Ergebnisse wurden bei der Tetanusimmunisierung und bei der Antitoxinbildung nach aktiver Immunisierung mit Diphtherietoxoid beschrieben. So kommt er zu dem Schluß, daß Periston-N keinen hemmenden Einfluß auf die Funktion des RES und damit auf die Antikörperbildung hat.

Auch FISCHER (11) fand beim Kaninchen keine funktionelle Schädigung des RES. Er berichtete, daß weder die Bildung der Isoantikörper (Anti- R_1 -Isoantikörper), auf die Injektion von R_1 -Kaninchenblutkörperchen, noch die

Bildung von Heteroantikörpern nach der Injektion von menschlichen O-Blutkörperchen durch die Verabreichung von Periston oder Periston-N gesenkt werden konnte.

Untersuchungen, die für die Molekulargewichtsverteilung bei dem heute verwendeten Macrodex zutreffend sind, veröffentlichten C. BURRI und M. ALLGÖWER. Wie sie zeigen konnten, erhöht die Blockade des RES durch Tusche die Anfälligkeit der weißen Maus auf Endotoxin und toxisches Homogenisat verbrannter Haut (bei 250° C während 15 sec. verbrannte Haut). Endotoxin wird vom RES aufgenommen, und der funktionelle Zustand dieses Systems kann über Leben und Tod der Tiere entscheiden. In der Versuchsanordnung wurden der weißen Maus Plasmaexpander, z.B. das Dextran intravenös injiziert und vier Stunden später eine LD₅₀ von Endotoxin oder eines toxischen Hauthomogenisates appliziert. Da sie keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe, die Dextran erhielt und der Gruppe, die physiologische Kochsalzlösung erhielt, fanden, kamen sie zu dem Ergebnis, daß Dextran in der üblichen Dosierung keine funktionelle Beeinträchtigung des RES in Bezug auf die Entgiftung von Endotoxinen und Verbrennungstoxinen bewirkt. In dieser Arbeit wird noch erwähnt, daß SCHMID mit der gleichen Technik Dextranfraktionen mit verschiedenen Molekulargewichten geprüft hat und dabei eine erhöhte Letalität für die hochmolekularen Dextranfraktionen (über 150000) gefunden hat (8).

Obwohl der morphologische Nachweis der Plasmaexpander in den Zellen des RES nur in Abhängigkeit von der Zeit, von der Menge und vom mittleren Molekulargewicht möglich ist, man also, falls es wirklich eine echte Speicherung und damit eine Schädigung der Funktion des RES geben sollte, dies nur in Abhängigkeit von der Zeit, der Menge und dem mittleren Molekulargewicht

beweisen kann, wurden in den Versuchsanordnungen, außer bei BARFUSS und EICHLER, nur ein oder zwei Injektionen gegeben; die Versuche erstreckten sich zum Teil nur über Stunden, und es wurde auch Periston-N mit einem mittleren Molekulargewicht von nur 12500 verwendet.

VI. Ist eine erneute Stellungnahme heute noch berechtigt, und unter welchen Bedingungen muß sie erfolgen?

Wenn auch morphologisch keine irreversiblen Veränderungen gesehen werden, und besonders LINDNER die Funktionssteigerung des RES nach Plasmaexpandern bei Überdosierungsversuchen betont, und sich aus den oben erwähnten Arbeiten, die sich experimentell mit der Funktion des RES nach Plasmaexpandern beschäftigten, keine Schädigung der Funktion des RES bei den **heutigen** Molekulargewichtsverteilungen ableiten läßt, wird doch vor der Steigerung der Menge in einer Behandlungsphase gewarnt.

Noch 1966 schreiben NUSSBAUMER und AMACKER (35), daß Personen, die einmal Polyvinylpyrrolidon erhalten hatten, es nie wieder erhalten sollten, auch sollte einer Person niemals mehr als ein Liter verabreicht werden.

Diese Arbeit ist zwar nur als ein Überblick früher und noch heute verwendeter Plasmaexpander für den Schweizer Offizinapotheker gedacht und sie weisen auch am Schluß darauf hin, daß nicht alle Autoren über scheinbar wichtige Probleme gleicher Meinung sind. So werden zum Polyvinylpyrrolidon nur einige Eigenschaften in wenigen Sätzen kurz angegeben, zur Chemie, zur Bindung von Farbstoffen, zur Ablagerung in den Zellen des RES, ehe sie zu dieser Schlußfolgerung kommen. Direkte Literaturhinweise im Kapitel Polyvinylpyrrolidon fehlen leider. Am Ende wird eine Fülle an Literaturhinweisen zu allen Plasmaexpandern angegeben, zum Teil ohne Titel der Arbeit,

sodaß es praktisch unmöglich ist nachzuprüfen, weshalb sie zu dieser Schlußfolgerung kommen.

So ruht die Diskussion zu diesem Thema, obwohl seit der Einführung in die Therapie etwa 25 Jahre vergangen sind, noch nicht. Aus diesem Grunde scheint es berechtigt, noch heute, obgleich die Forschung in diesen 25 Jahren keinen Beweis für eine dauernde Schädigung der Funktion des RES erbringen konnte, zu diesem Problem Stellung zu nehmen.

Die vorliegende Arbeit soll zu dem Problem Stellung nehmen, ob es durch die Gabe der beiden Plasmaexpander Macrodex und Periston zu einer Beeinträchtigung der Antikörperbildung als Teilfunktion des RES kommt.

Es ergibt sich aus den oben angeführten Arbeiten, daß folgende Punkte zu berücksichtigen sind:

1. Die Zeit.

Wenn es wirklich eine echte Speicherung über lange Zeit und damit eine Schädigung der Funktion des RES geben sollte, könnte diese Schädigung nur nach wiederholten Gaben über eine längere Zeit auftreten. Arbeiten zur Funktion des RES über eine längere Zeit sind außer der von BARFUSS und EICHLER nicht bekannt. Auch ist die Behauptung zu überprüfen, daß der Plasmaexpander Polyvinylpyrrolidon nach einer Behandlungsphase nicht mehr gegeben werden dürfte.

In der Versuchsanordnung werden die beiden Plasmaexpander in mehreren Behandlungsphasen über je 10 Tage wiederholt gegeben, in der einen Gruppe bis zu 26 Wochen, in der anderen Gruppe, mit deren Grundimmunsierung aus technischen Gründen erst später begonnen werden konnte, bis zu 16 Wochen.

2. Die Menge.

Wie von morphologischer Seite betont wird, ist die Menge des von den Zellen des RES aufgenommenen Plasmaexpanders abhängig von der applizierten Menge. Es sollten keine Überdosierungsversuche durchgeführt werden, um die Möglichkeit einer falschen Interpretation auszuschließen, wie es zum Beispiel mit der Arbeit von BARFUSS und EICHLER geschehen ist.

Den Tieren wurden bei täglichen i.v.-Injektionen innerhalb von jeweils 10 Tagen etwa 100 ccm pro kg Körpergewicht eines Plasmaexpanders, Periston oder Macrodex, gegeben.

3. Das mittlere Molekulargewicht.

Wie oben beschrieben stehen die Ablagerungen in den Zellen des RES im direkten Verhältnis zum mittleren Molekulargewicht. Je höher das Molekulargewicht, um so stärker sieht man die Zellen des RES mit dem Plasmaexpander beladen. Auch treten bei sehr hohem Molekulargewicht Schädigungen der Funktion des RES auf, wie SCHMID mit Fraktionen über 150000 vom Dextran nachweisen konnte. Da die Ergebnisse auf den Menschen übertragen werden sollten, der mit den handelsüblichen Plasmaexpandern behandelt wird, wurden diese verwendet. Das bedeutet beim Macrodex ein mittleres Molekulargewicht um 70000 und beim Periston ein mittleres Molekulargewicht um 25000.

4. Das Versuchstier.

Gelegentlich werden anaphylaktische Reaktionen an Ratten nach Dextrangaben festgestellt und so ist auf Grund einiger Arbeiten speziell von LENDLE und WEISSER, sowie von GREEFF und CONTZEN zu betonen, das letzten Endes die Ratte für derartige spezielle Untersuchungen nicht geeignet ist, da sie z.T. an verschiedenen Organen

oder Geweben Reaktionen zeigt, die beim Menschen ebenso wenig vorkommen, wie bei der Maus, dem Meerschweinchen, Kaninchen, Hund oder der Katze (aus 29). Es wurde das Kaninchen als Versuchstier gewählt.

5. Methodik.

Um die oben erwähnten Forderungen zur Zeit zu erfüllen war es notwendig, eine Methode zu wählen, bei der die Untersuchungen bei demselben Versuchstier immer wiederholt werden konnten, und nicht eine Versuchsanordnung wie z.B. bei BURRI und ALLGÖWER, bei der sich das Ergebnis in Letalitätszahlen ausdrückt. Diese Methode eignet sich nur zu einer Aussage zur Funktion des RES nach einer einmaligen Injektion eines Plasmaexpanders.

Wenn man als Kriterium für den Funktionszustand des RES die Bildung von Antikörpern benutzen will, benötigt man eine Methode, bei der es nach erneutem Zeitintervall zu einem Absinken des Antikörpertiters kommt, sodaß nach einiger Zeit ein erneutes Ansteigen des Antikörpertiters als Ausdruck der Funktionsbereitschaft des RES geprüft werden kann.

VII. Antikörper gegen Transaminasen, ihre Bedeutung und immunologischen Eigenschaften.

Als Kriterium für die Funktionsbereitschaft des RES beim Kaninchen wurde die Bildung von Antikörpern gewählt. Als Antigen wurde hochgereinigte Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma der Firma C.H. Boehringer, Mannheim, verwendet und dann die enzymaktivitätshemmende Wirkung dieser Antikörper gegen das gereinigte Organenzym bestimmt.

Die Bedeutung der Enzym-Antikörper hat in den letzten Jahren sehr zugenommen. Untersuchungen zeigten, daß das Studium der Enzym-Antikörper nicht nur dem Immunchemiker

einen weiteren Einblick in das Wesen der Antigen-Antikörperreaktion gestattet, sondern auch bei biochemischen Arbeiten wertvolle Kenntnisse, wie z.B. bei der Strukturaufklärung von Enzymen, vermitteln kann.

Die Anwendung der Enzymimmunologie auf Fragestellungen der klinischen Pathologie steht noch in den Anfängen. Dabei liegt die Bedeutung in der Schlüsselstellung von Enzymen im Zellstoffwechsel bei hoher Spezifität und Empfindlichkeit enzymkinetisch-immunologischer Untersuchungen.

Zur Bedeutung der Enzym-Antikörper für die Klinik ist der von N. LANG unter Mitarbeit von A. WIETASCH auf Grund der Kenntnisse der Antigenspezifität der Transaminasen ausgearbeitete Latextest erwähnenswert (24). Durch einfache Schüttelinkubation, ohne vorheriges Abzentrifugieren, am Aussehen des Schüttelagglutinates, gelang es ihnen, einen Anhalt für die Enzymaktivität der Transaminasen im Serum zu finden. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß sie einfach und photometerunabhängig ist, wenn es nur darauf ankommt, zwischen "normal" und "pathologisch" zu unterscheiden. Die Aussage des Latextestes ist leider sehr beschränkt, sie liegt bei 20 mU/ml. Da heute ein Normalwert von 12 mU/ml gefordert wird, eine Aussage des Latextestes im Bereich von 12 mU/ml bis 20 mU/ml als Hinweis auf eine chronische Lebererkrankung nicht möglich ist, hat dieser Test - selbst als Screening-Test für Blutbanken - in der Klinik bis jetzt in dieser Form noch keine Bedeutung gewinnen können.

Bei den Untersuchungen (32) zu den immunologischen Eigenschaften der Kaninchenantikörper gegen die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma erwartete man anfangs

im Falle einer immunologischen Organspezifität Aussagen über die Organherkunft, im Falle einer immunologischen Isoenzymspezifität z.T. Aussagen über die Herkunft aus verschiedenen Zellkompartimenten (etwa der GOT-Isoenzyme aus Mitochondrien und Cytoplasma). Im ersten Falle kann die Aussage differentialdiagnostisch von Interesse sein, im zweiten Falle für die Beurteilung der Art und eventuell des Schweregrades einer Zellschädigung.

Diese Hoffnungen haben sich nur zum Teil erfüllt. Bei der Immunhemmung schien zunächst eine Organspezifität der GPT vorzuliegen (25,31), da sich die Hemmung in Extrakten verschiedener Organe als unterschiedlich erwies. LANG und MASSARRAT (25) fanden zunächst die Hemmung der Leber-GPT um $1/4 - 1/5$ geringer, als die der GPT von Herz und Skelettmuskel, dachten an eine erkennbare Organspezifität und nahmen an, daß sich die Leber-GPT in ihrer Antigenstruktur von der GPT in Herz und Skelettmuskel unterscheidet. Gleiches wurde für die GOT mitgeteilt. Später berichtete LANG (23), daß das durch unterschiedliche Isoenzymzusammensetzung bei nachgewiesener Isoenzymspezifität der Antiseren (26,28) zu erklären ist; denn die chromatographisch isolierte Cytoplasma-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (C-GOT) verschiedener Organe wird durch ein C-GOT-Antiserum gleich stark gehemmt. Das Problem qualitativer Organspezifitäten löst sich im Bereich der Enzymimmunologie oft in das Problem einer nur quantitativ unterschiedlichen Verteilung von Isoenzymen. Wenn überhaupt organspezifische Molekülkonfigurationen vorkommen, so allenfalls in einer Größenordnung von einigen Prozent der insgesamt immunologisch gehemmten Moleküle (28).

Über die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antikörper, gewonnen durch die Immunisierung von Kaninchen mit GOT und GPT aus Schweineherzcytoplasma, berichten LANG und MASSARRAT (25). Sie fanden, daß diese Antikörper ("unsere Antikörper") die Enzymaktivität der Transaminasen hemmen, und es zeigte sich eine strenge Spezifität gegenüber der korrespondierenden Transaminase, das heißt, GOT-Antikörper hemmen die Enzymaktivität der GOT, GPT-Antikörper hemmen die Enzymaktivität der GPT und niemals umgekehrt. Die gleiche strenge Spezifität für das korrespondierende Enzym gilt für die Praecipitation.

Bei keiner Spezies hemmt der Cytoplasma-GOT-Antikörper die GOT der Mitochondrien. Antiseren gegen die cytoplasmatische GOT hemmen nur diese, nicht dagegen die mitochondriale GOT, sowohl von Schweineorganen, als auch von Humanorganen. Umgekehrt hemmen Kaninchenantikörper gegen Human-M-GOT die M-GOT (mitochondriale GOT) beider Spezies (Mensch und Schwein), nicht dagegen die C-GOT beider Spezies. In Gemischen beider Isoenzyme ist der Grad der Immunhemmung dem Anteil des hemmbaren Isoenzym proportional (31). Es besteht also auch eine strenge Isoenzymspezifität.

Auf Grund ihrer Befunde kamen LANG und MASSARRAT zu dem Schluß, daß die C-GOT und die M-GOT desselben Organes und derselben Spezies zwei in ihrer Struktur verschiedene Moleküle sind, die in Immunhemmung und Immunpraecipitation keine gemeinsamen Antigendeterminanten erkennen lassen (25).

Diese Kaninchenantikörper gegen Schweineherz-C-GOT hemmen nicht die Enzymaktivität der Malatdehydrogenase. Dieser Ausschluß war aus methodischen Gründen notwendig, da sich die Malatdehydrogenase bei der Messung

der Enzymaktivität, der nicht durch die Antikörper in ihrer Enzymaktivität gehemmten GOT, als Hilfsenzym im Ansatz befindet (siehe auch unter Methodik).

Weiterhin besitzen die Kaninchenantikörper gegen Schweineherz-GOT einen aktivitätshemmenden Einfluß auf die GOT verschiedener Organe, und zwar sowohl des Schweines, als auch des Menschen, des Meerschweinchens und der Ratte, nicht aber die des Kaninchens als der immunisierten Spezies. Sie haben also keine Autoantikörpereigenschaft.

Diese Speziesspezifität ist aber nur relativ. Die maximale Immunhemmung zeigt wie die Praecipitation eine quantitative Abstufung. Die Immunhemmung durch Schweine-GOT-Antikörper ist bei der Ratte etwa nur halb so groß wie beim Schwein. LANG und MASSARRAT erklären dies durch unterschiedliche Molekülkonfiguration bei den einzelnen Spezies (siehe auch unten).

Sie beobachteten dagegen bei allen ihren Versuchen eine besonders enge Antigenverwandtschaft bei der Immunhemmung dieser Antikörper gegen Schweineherz-GOT gegenüber der GOT aus Schweineorganen und Menschenorganen, ohne Organspezifität, aber mit strenger Isoenzymspezifität. Kaninchenantisera gegen Schweineherz-C-GOT hemmen die Human-C-GOT unabhängig von ihrer Organherkunft um nahezu den gleichen Betrag wie die Schweine-C-GOT. Diese Eigenschaft erlaubt es, ohne Spezifitätsverlust Untersuchungen zur Pathophysiologie der Transaminasen-Isoenzyme im Humanserum mit Kaninchenantikörpern gegen Schweineherz-GOT durchzuführen.

Infolge dieser Eigenschaften konnten LANG und MASSARRAT (33) immunologisch nachweisen, daß bei einem Teil der Herzinfarkte in der Anfangsphase auch die mitochondriale GOT ins Serum austritt. Bei einem Infarktpatienten fanden sie vier Stunden nach dem Infarkt einen

Austritt von etwa 30 % mitochondrialer GOT. Später findet sich ausschließlich cytoplasmatische GOT im Serum (Hemmung nur durch C-GOT-Antikörper). Auch die normalerweise und die bei Leberkranken ohne nekrotischen Schub vorkommende GOT hat die Antigenspezifität des zytoplasmatischen Isoenzym, unabhängig von der Höhe der GOT-Aktivität im Serum.

Immunantikörper hemmen je nach Art des Enzyms dessen Aktivität in sehr unterschiedlicher Weise, und nur selten wurde in der Literatur eine 100%ige Hemmung von Fermenten durch korrespondierende Antikörper mitgeteilt (aus: 15). Die inkomplette Immunhemmung ist in der Enzymimmunologie also die Regel. LANG und MASSARRAT fanden bei der GOT eine maximale Immunhemmung von 85 % bei einem Serumgemisch, gewonnen von verschiedenen Kaninchen, bei Antikörperüberschuß im Ansatz. Bei den unten beschriebenen Versuchen wurde bei einem Tier eine Immunhemmung von 94,4 % gefunden (doppelte Bestimmung).

LANG und MASSARRAT untersuchten den Zusammenhang der Immunhemmung bei gleichbleibendem Enzymangebot durch Erhöhung des Antiserumangebotes (in ml). Es resultierte eine, nach einer zusammengesetzten Exponentialfunktion ansteigende Immunhemmung (32). Diese Immunhemmung beträgt aber auch bei Antikörperüberschuß niemals 100 %.

Eine Erklärung des Phänomens der immunologischen Enzymaktivitätshemmung ist trotz einer Reihe einschlägiger Untersuchungen noch überwiegend hypothetisch. Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, daß eine Bindung an die aktiven Zentren der Enzyme keine notwendige Voraussetzung für eine Immunhemmung ist. Auch Antikörper gegen andere Gruppen des Enzymmoleküls können eine Enzym-Aktivitätshemmung bewirken, sei es durch eine Konfigurationsänderung oder durch indirekte Behinderung des Substrat-Zutritts zu den aktiven Zentren.

Die Unvollständigkeit der immunologischen Enzym-Aktivitätshemmung kann unter anderem durch eine Konkurrenz aktivitätshemmender und nicht aktivitätshemmender Antikörper zustande kommen, ebenso durch eine Konkurrenz zweier aktivitätshemmender Antikörper unterschiedlicher Affinität. Für die letztgenannte Möglichkeit könnte nach LANG und MASSARRAT der Verlauf der Hemmkurve (die oben beschriebene zusammengesetzte Exponentialfunktion, Darstellung siehe Seite 512) sprechen, der sich durch Überlagerung zweier Antikörperfunktionen unterschiedlicher Affinität erklären läßt (32).

Weiter vertreten sie die Ansicht (27), daß die Abstufung der Immunhemmung der C-GOT verschiedener Spezies dafür spricht, daß die Antikörper der Kaninchen gegen die C-GOT aus Schweineherzcytoplasma nicht gegen das (bei den verschiedenen Spezies am ehesten übereinstimmende) aktive Zentrum gerichtet sind, sondern vielmehr gegen eine in der Kaninchen-C-GOT nicht vorkommende Molekülkonfiguration der Schweine-C-GOT, die z.B. auch in der Human-C-GOT vorhanden ist, wenngleich in leicht modifizierter, weniger gut an die Antikörper angepaßter Form.

Vor diesen Ergebnissen standen die Untersuchungen von LANG und MASSARRAT zur Methodik der Bestimmung der enzymaktivitätshemmenden Wirkung dieser Antikörper. Sie untersuchten Inkubationsdauer, -temperatur und -volumen, Substrat- und Coenzymumsatz (Menge und Reihenfolge) wurde variiert, ebenso die Antigen-Antikörper-Konzentration und Relation. Nach den Befunden der Literatur ist der Einfluß dieser Faktoren von Enzym zu Enzym sehr unterschiedlich und ihre Untersuchung in jedem Fall eine Voraussetzung der richtigen Bewertung von Immunhemmungen. Sie beschrieben die optimalen Be-

dingungen (32) zur Bestimmung der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren. Die Methodik wurde von ihnen übernommen.

Die Immunisierung der Kaninchen wurde ähnlich wie bei LANG und MASSARRAT durchgeführt, nicht in derselben Weise. Es interessierten nicht die Antikörper als solche, mit denen dann LANG und MASSARRAT weitere Versuche durchführten (z.B. bei Antikörperüberschuß durch Steigerung der Menge in ml), sondern es interessierte die enzymaktivitätshemmende Wirkung (also die Menge der Antikörper) in einer Volumeneinheit in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der einzelnen Untersuchung.

VIII. Methodik.

Insgesamt wurden 10 Kaninchen bei diesen Versuchen immunisiert. Jedes Kaninchen wurde über eine längere Zeit zweimal wöchentlich mit einem Gemisch von 0,1 ml (= 1 mg) Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und 0,4 ml Aluminiumhydroxydgel intraperitoneal immunisiert. Zur Immunisierung wurde hochgereinigte Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma (C-GOT) der Firma C.F. Boeringer, Mannheim, verwendet.

In frei gewählten Abständen wurde die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Kaninchenserum gegenüber der C-GOT bestimmt, also die Antikörper gegen diese Transaminase. Die Bestimmung erfolgte gegen einen Nullwert von einem Kaninchen, das nicht immunisiert wurde. Dabei zeigte sich, daß die Antikörper gegen die C-GOT nach einer Exponentialfunktion bei den einzelnen Kaninchen anstiegen. Die wöchentliche Immunisierung wurde so lange durchgeführt, bis eine ausreichend hohe enzymaktivitätshemmende Wirkung erreicht war, oder der Antikörperspiegel trotz weiterer Immunisierung nicht nachweisbar anstieg;

denn die Immunhemmung ist unvollständig und eine 100%ige Immunhemmung war nicht zu erwarten.

Maximal wurde bei einem Kaninchen eine enzymaktivitätshemmende Wirkung von 94,4 % gefunden (Die Angabe der enzymaktivitätshemmenden Wirkung erfolgt zum besseren Vergleich in Prozent, von der im Ansatz befindlichen C-GOT aus Schweineherzcytoplasma).

Die erforderliche Zeit zur Erreichung der maximalen Immunhemmung war bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich, sie betrug zwischen vier und elf Wochen. Auch in der Stärke der anzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren bestanden Unterschiede. Auf eine ausführliche Wiedergabe der Werte bis zur Beendigung der Grundimmunisierung wird verzichtet, da sie für die spätere Beurteilung nicht von Bedeutung sind.

Nachdem so ein ausreichend hoher Antikörperspiegel erreicht worden war, wurden die Tiere eine zeitlang nicht mehr immunisiert. Während dieser Pause kam es zu einem Abfall der enzymaktivitätshemmenden Antikörper im Kaninchenserum, bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich.

Auf eine Boosterinjektion hin stiegen die Antikörper wieder an. Die enzymaktivitätshemmende Wirkung wurde jetzt und bei den folgenden Boosterinjektionen jeweils am Tage der Boosterinjektion, am 6. Tage danach und am 10. Tage nach der Boosterinjektion bestimmt. Nach einem gewissen Zeitabstand, in dem die enzymaktivitätshemmende Wirkung wieder abfiel, wurde eine zweite Boosterinjektion intraperitoneal gegeben und in denselben Zeitabständen die Antikörper bestimmt.

Durch diese zwei Boosterinjektionen sollte das Verhalten der einzelnen Tiere auf eine Boosterinjektion untersucht werden, da bis dahin keine Ergebnisse

zum Anstieg der Antikörper auf eine intraperitoneale Boosterinjektion vorlagen; denn bei den Untersuchungen von LANG und MASSARRAT interessierten die Antikörper als solche und nicht ihr quantitativer Anteil in einer Volumeneinheit, bzw. der Anstieg der Antikörper.

Nach dieser Grundimmunisierung und den anschließenden beiden Boosterinjektionen wurden wieder Boosterinjektionen in etwa denselben Zeitabständen gegeben. Jetzt wurde aber gleichzeitig täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen ein Plasmaexpander i.v. gespritzt, etwa 100 ccm pro kg Körpergewicht innerhalb dieser 10 Tage. Bei der einen Gruppe wurde als Plasmaexpander Macrodex der Firma Knoll mit einem mittleren Molekulargewicht um 75000, in der anderen Gruppe Periston der Firma Bayer mit einem mittleren Molekulargewicht um 25000 verwendet. Die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antikörper gegenüber der Schweineherz-C-GOT wurde wieder am Tage der Boosterinjektion, am 6. Tage und am 10. Tage danach bestimmt.

Da, wie oben beschrieben, der histologische Nachweis von Plasmaexpandern in den Zellen des RES erst nach Wochen bzw. Monaten möglich ist, eine Schädigung sich erst mit der Zeit zeigen könnte, wurden dieselben Versuche bei denselben Tieren wiederholt durchgeführt. Es sollte damit untersucht werden, ob die Bildung dieser Antikörper über einen längeren Zeitraum durch die Aufnahme der Plasmaexpander in den Zellen des RES gehemmt wird.

So erhielten die Tiere nach einer Pause von etwa 6 - 8 Wochen, in der der Antikörperspiegel wieder abfiel, wieder eine Boosterinjektion und über 10 Tage täglich i.v. Macrodex bzw. Periston. In gleichen Abständen wie oben wurden die Antikörper bestimmt.

Diese Untersuchungen wurden, nach der Grundimmunisierung und den beiden ersten Boosterinjektionen ohne Plasmaexpander, in der einen Gruppe über einen Zeitraum von insgesamt 26 Wochen und in der anderen Gruppe, mit deren Grundimmunisierung aus technischen Gründen erst später begonnen werden konnte, über einen Zeitraum von insgesamt 16 Wochen durchgeführt.

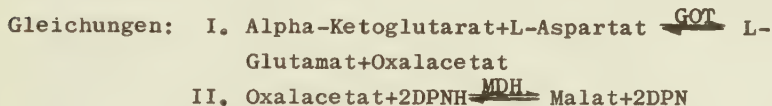
Während der Versuche starben von den 10 Kaninchen sechs unter den Zeichen der Polyurie und Kachexie. Der Tod wird nicht auf die Anwendung der Plasmaexpander zurückgeführt. Zur gleichen Zeit starben im Tierstall unter den gleichen Symptomen auch andere Kaninchen, die nicht zu der Versuchsgruppe gehörten. Zwei Kaninchen starben bereits nach der Grundimmunisierung, die anderen Tiere zwischen zwei Versuchsphasen. Berücksichtigen muß man dabei auch, daß die Versuche sich über einen Zeitraum von etwa 60 Wochen hinzogen.

Da nach dem Tod von zwei Kaninchen in der Gruppe, die Periston erhalten sollte, die restlichen drei Kaninchen für eine Aussage nicht ausreichten, wurde nach zwei Versuchsphasen der Plasmaexpander gewechselt, um auch die Tiere der anderen Gruppe mit für die Aussage heranzuziehen. Es sollte damit eine erneute Grundimmunisierung mit den zwei Boosterinjektionen über einen Zeitraum von etwa einem halben Jahr umgangen werden.

B. Bestimmung der Antikörper.

Die Grundlage zur Bestimmung der Kaninchenantikörper gegen Schweineherz-C-GOT ist die Hemmung der Enzymaktivität der Schweineherz-C-GOT (zur Methodik siehe auch: 32; dort werden die einzelnen Mengen im Ansatz in Mol und internationalen Einheiten, mU, angegeben).

Nach der Inkubation und der Immunhemmung wird die restliche im Ansatz befindliche Aktivität der Schweineherz-C-GOT gemessen. Zur Messung der Enzymaktivität bedient man sich der Funktion des Enzyms bestimmte chemische Umsetzungen zu katalysieren, man mißt also nicht die Menge des Enzyms, sondern seine Enzymaktivität. In diesem Fall katalysiert das Enzym Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, die in der Gleichgewichtsgleichung I beschriebene Reaktion. Die in der Gleichung II beschriebene Reaktion mit Malatdehydrogenase (MDH) als Hilfsenzym dient als "Indikatorreaktion".



Die Enzymaktivität der C-GOT wird durch die zeitliche Zunahme des entsprechenden Oxalacetats gemessen. Das Oxalacetat wiederum wird durch die gekoppelte, sekundäre DPNH (reduz. Diphosphorpyridinnucleotid) abhängige "Indikatorreaktion" mit Malatdehydrogenase als Hilfsenzym bestimmt. Der DPNH-Verbrauch ist proportional der gebildeten Menge an Oxalacetat, diese wieder abhängig von der Enzymaktivität, und somit ist der DPNH-Verbrauch Meßgröße. Die Messung des Substratumsatzes pro Zeiteinheit erfolgte im Photometer Eppendorf bei einer Wellenlänge von $366 \text{ m}\mu$. In diesem Wellenbereich (von $300 - 400 \text{ m}\mu$) adsorbiert das entstehende DPN (Diphosphopyridinnucleotid) nicht. Nur so ist es möglich, den Ablauf der Enzymreaktion im Photometer direkt zu verfolgen.

Nach den Angaben von LANG und MASSARRAT (32) wurde die Inkubation und Messung folgendermaßen durchgeführt. Die Angaben in Mol und mU siehe dort. Es wurde jeweils $0,03 \text{ ml}$ einer mit Puffer um das 250fache verdünnten Lösung der hochgereinigten C-GOT aus Schweineherzcytoplasma der Firma C.F. Boeringer, Mannheim, mit $0,02 \text{ ml}$

Antiserum, und im Kontrollversuch mit Normalserum, nach der Zugabe von 0,84 ml Puffer bei Raumtemperatur, nach guter Durchmischung, 20 Minuten lang inkubiert. Der Puffer: 1,47 g KH_2PO_4 ; 9,95 g Na_2HPO_4 : 2 H_2O und 2,232 g Titriplex III auf 1 Liter Aqua bidestillata, pH 7,5.

Nach der Zugabe von 0,3 ml DPNH (10 mg DPNH gelöst in 1 ml H_2O), 0,01 ml Alpha-Ketoglutarinsäure (438 mg in 3 ml NaOH 2n gelöst, pH 7,0) und 0,03 ml MDH (0,05 ml MDH in 0,45 ml Puffer) wurde kurz vor der Messung 0,05 ml Aspartat (399 mg Asparaginsäure in 2,95 ml NaOH 1n, pH 7,0) zugegeben.

Die Messung erfolgte im Photometer Eppendorf bei einer Wellenlänge von $366 \text{ m}\mu$ und einer Temperatur von 25 Grad C. Aus den Exstinktionen wurde die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren in Prozenten nach der Formel $100 - a/b \cdot 100 = \text{Prozent der Hemmung}$, berechnet. Dabei bedeutet a der Quotient aus dem Dividend 1800 und dem Divisor Exstinktion des Versuches, und b bedeutet der Quotient aus dem Dividend 1800 und dem Divisor Exstinktion des Nullwertes.

Die Genauigkeit der Ergebnisse ist abhängig von der Höhe des Antikörpertiters. Nach LANG und MASSARRAT (32) ändert sich die Immunhemmung der Schweineherz-C-GOT bei variablem Antikörperangebot nach einer zusammengesetzten Exponentialfunktion, die im Bereich einer geringeren Antikörpermenge gegen C-GOT steiler verläuft, als im Bereich eines größeren Antikörperangebotes. So ist die Genauigkeit der Meßergebnisse bei einer größeren aktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren als größer anzusehen, als in einem niedrigeren Bereich.

IX. Die Versuchsergebnisse.

Nach Beendigung der Grundimmunisierung (durch 2 mal wöchentlich intraperitoneale Injektion eines Gemisches aus 0,1 ml C-GOT und 0,4 ml Aluminiumhydroxydgel) wurden folgende Werte für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der vom Kaninchen gewonnenen Antiseren gegen die C-GOT aus Schweineherzcytoplasma gefunden (doppelte Bestimmung):

Tier Nr.	1	2	3	4	5
nach 8 Wochen :	74,4%	79,5%	90,2%	75,7%	94,5%
nach 11 Wochen :	73,2%	85,4%	92,5%	77,0%	93,0%

Ein wesentlicher Anstieg der enzymaktivitätshemmenden Wirkung war durch die Ausdehnung der Grundimmunisierung von 8 auf 11 Wochen nicht zu erreichen. In der zweiten Gruppe waren die Werte wie folgt:

Tier Nr.	6	7	8	9	10
nach 4 Wochen :	78,0%	46,8%	94,4%	91,1%	87,8%
Nach 8 Wochen :	89,5%	85,5%	-	-	-

Auf eine Bestimmung der Werte nach 8 Wochen wurde bei den Tieren 8,9 und 10 verzichtet, da diese Tiere nach den vier Wochen nicht weiter immunisiert wurden, denn es war bereits eine ausreichend hohe enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren gefunden, die über den von LANG und MASSARRAT angegebenen 85 % lag.

Bei diesen Ergebnissen zeigte sich, daß die Höhe der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren in Abhängigkeit von der Menge des Antigens unterschiedlich bei den einzelnen Tieren war. Bei allen Tieren war die Grundimmunisierung nach 8 Wochen, also nach etwa 16

intraperitonealen Injektionen von je 0,1 mg C-GOT als Antigen beendet. Die Ausdehnung der Grundimmunisierung auf 11 Wochen brachte keine bemerkenswerte Änderung. Bei einzelnen Tieren war die zu erwartende Höhe der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren bereits nach 4 Wochen, d.h. nach 0,8 mg C-GOT als Antigen, erreicht.

Auch bei den beiden folgenden Boosterinjektionen zeigten sich auf diese einmalige intraperitoneale Injektion von 0,1 mg C-GOT gemischt mit 0,4 ml Aluminiumhydroxyd-gel Unterschiede von Tier zu Tier. Die Anstiege, und auch die Anstiege auf die weiteren Boosterinjektionen waren aber bei den einzelnen Tieren selbst nicht sehr unterschiedlich. Die Zunahme der enzymaktivitätshemmenden Wirkung auf eine Boosterinjektion lag bei den einzelnen Tieren zwischen 5,2 und 59,4 Prozent, wenn man den einen Wert unberücksichtigt läßt, wo kein Anstieg, sondern ein Absinken zu verzeichnen war.

Bei der allerersten Boosterinjektion, die bei den Versuchen gegeben wurde, war nur ein Abstand von drei Wochen gewählt. In diesen drei Wochen war bei einigen Tieren die enzymaktivitätshemmende Wirkung um etwa 50 % abgefallen, bei anderen jedoch nur um einige Prozente. Beim Abfall des Antikörpertiters im Serum zeigten sich von Tier zu Tier große Unterschiede.

Da befürchtet wurde, daß bei Abständen von drei Wochen bis zur nächsten Boosterinjektion ein signifikantes Abfallen nicht festzustellen ist, und als Folge auf eine Boosterinjektion keine Anstiege festzustellen sind, wurden die Abstände zwischen zwei Boosterinjektionen vergrößert. Dabei zeigte sich aber gegen Ende der Versuche, daß die Antikörpertiter in einen Bereich abgesunken waren, trotz der Boosterinjektionen, in dem die

Genauigkeit der Methode zur Bestimmung der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren nachläßt.

Die Ergebnisse nach den beiden Boosterinjektionen:

Nach 3 Wochen Pause:

Tier Nr.	1	2	3	4	5
Am Tage der Boosterinjektion:	60,6%	71,2%	76,1%	26,5%	59,8%
6 Tage nach der Boosterinjektion:	63,8%	70,3%	78,7%	58,4%	58,5%
10 Tage nach der Boosterinjektion	67,2%	80,5%	81,1%	74,9%	80,7%
Differenz: 5 Wochen nach der letzten Booster- injektion:	6,6%	9,3%	5,0%	48,4%	20,9%
Am Tage der Boosterinjektion	47,5%	62,0%	74,5%	17,3%	31,8%
6 Tage nach der Boosterinjektion	55,0%	59,8%	83,4%	52,2%	12,5%
10 Tage nach der Boosterinjektion	60,8%	63,4%	89,1%	76,6%	37,0%
Differenz:	13,3%	1,1%	14,6%	59,3%	5,2%

In der anderen Gruppe wurden für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren, nach einer Pause von 8 Wochen bei den Tieren 8,9 und 10 und nach einer Pause von 4 Wochen bei den Tieren 6 und 7, folgende Werte gemessen:

Tier Nr.	6	7	8	9	10
Am Tage der Boosterinjektion	52,8%	26,0%	64,6%	33,8%	59,0%
6 Tage nach der Boosterinjektion	66,2%	18,2%	58,4%	86,5%	38,0%
10 Tage nach der Boosterinjektion	79,3%	46,2%	73,0%	89,6%	50,8%
Differenz:	16,5%	20,2%	8,4%	55,8%	8,2%

Nach einer Pause von 7 Wochen wurden bei der zweiten
Boosterinjektion diese Werte gemessen:

Tier Nr.	6	7	8	9	10
Am Tage der Boosterinjektion	63,5%	15,6%	58,3%	23,8%	46,2%
6 Tage nach der Boosterinjektion	76,7%	14,5%	57,2%	76,9%	50,6%
10 Tage nach der Boosterinjektion	84,3%	28,5%	70,4%	83,2%	54,0%
Differenz:	18,8%	12,9%	12,1%	59,4%	7,8%

Nach diesen beiden Boosterinjektionen wurde nach einer
Pause zusätzlich zur Boosterinjektion ein Plasmaexpan-
der, Periston, bzw. MacroDEX über 10 Tage, insgesamt
etwa 100 ccm pro kg Körpergewicht i.v. gegeben und die
enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren wie oben
am Tage der Boosterinjektion, am 6. Tage und am 10. Tage
nach der Boosterinjektion bestimmt.

Es wurden folgende Werte gefunden:

Nach einer Pause von 7 Wochen und bei der Gabe von
Macrodex:

Tier Nr.:	1	2	3	4	5
Am Tage der Boosterinjektion	44,5%	44,5%	79,2%	13,4%	23,4%
6 Tage nach der Boosterinjektion	51,4%	50,0%	86,5%	53,8%	16,2%
10 Tage nach der Boosterinjektion	55,0%	52,5%	90,9%	71,1%	33,8%
Differenz:	10,5%	8,0%	11,7%	57,7%	10,4%

Bei denselben Tieren nach einer Pause von 10 Wochen
und bei der Gabe von Macrodex (Nr. 4 und Nr. 5 waren
in der Zwischenzeit verstorben):

Am Tage der Boosterinjektion	36,2%	25,5%	71,9%	-	-
6 Tage nach der Boosterinjektion	40,6%	26,9%	81,9%	-	-
10 Tage nach der Boosterinjektion	46,1%	29,8%	86,1%	-	-
Differenz:	9,9%	4,3%	14,2%	-	-

Bei denselben Tieren nach einer Pause von 9 Wochen
und der Gabe von Periston:

Am Tage der Boosterinjektion	22,5%	22,2%	67,9%	-	-
6 Tage nach der Boosterinjektion	39,4%	20,4%	73,5%	-	-
10 Tage nach der Boosterinjektion	43,5%	28,5%	76,0%	-	-
Differenz:	11,0%	6,3%	8,1%	-	-

Bei denselben Tieren nach einer Pause von 11 Wochen und bei der Gabe von Periston (Tier Nr. 3 war in der Zwischenzeit verstorben):

Tier Nr.	1	2
Am Tage der Boosterinjektion	28,5%	20,5%
6 Tage nach der Boosterinjektion	36,2%	20,5%
10 Tage nach der Boosterinjektion	39,6%	25,8%
Differenz:	11,1%	5,3%

In der anderen Gruppe wurden nach der Grundimmunisierung und den beiden Boosterinjektionen nach einer Pause von 10 Wochen nach einer Boosterinjektion und der Gabe von Periston folgende Werte für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren ermittelt (Tier Nr. 7 und 9 waren in der Zwischenzeit verstorben):

Tier Nr.	6	8	10
Am Tage der Boosterinjektion	59,3%	54,5%	38,6%
6 Tage nach der Boosterinjektion	68,9%	53,8%	50,6%
10 Tage nach der Boosterinjektion	72,0%	65,9%	55,1%
Differenz:	12,7%	11,4%	16,5%

Nach einer Pause von 9 Wochen, einer Boosterinjektion und bei der Gabe von Periston ergaben sich folgende Werte:

Tier Nr.	6	8	10
Am Tage der Boosterinjektion	47,7%	49,3%	36,2%
6 Tage nach der Boosterinjektion	58,3%	51,4%	47,7%
10 Tage nach der Boosterinjektion	63,9%	58,6%	49,2%
Differenz:	16,2%	9,3%	13,0%

Nach einer weiteren Pause von 11 Wochen, einer Boosterinjektion und bei der Gabe von Macrodex ergaben sich folgende Werte für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren (Tier Nr. 8 war in der Zwischenzeit verstorben):

Am Tage der Boosterinjektion	43,5%	-	31,2%
6 Tage nach der Boosterinjektion	55,1%	-	39,5%
10 Tage nach der Boosterinjektion	64,6%	-	41,6%
Differenz:	21,1%	-	10,4%

Bei allen diesen Werten nach einer Boosterinjektion und der gleichzeitigen Gabe von Plasmaexpandern zeigt sich, daß nach 10 Tagen in den Seren eine höhere enzymaktivitätshemmende Wirkung gegen die C-GOT aus Schweineherzcytoplasma als am Tage der Boosterinjektion gefunden wird, eine Blockade des RES nach den Gaben von Plasmaexpandern über eine längere Zeit also nicht vorliegen kann.

X. Signifikanzberechnung.

Zur Signifikanzberechnung wurden alle Werte herangezogen, d.h. auch die Werte nach einer Boosterinjektion ohne Plasmaexpander bei den Tieren (Nr. 7 und 9), die gestorben sind, obwohl gerade diese Tiere auf eine Boosterinjektion einen sehr hohen Anstieg zeigten, der bei keinem anderen Tier wieder gefunden wurde.

Wie oben ausgeführt, kommt es auf den Mengen-Zeitfaktor bei einer eventuellen funktionellen Schädigung des RES durch die Plasmaexpander an. Wenn man davon ausgeht, daß die Versuche in der einen Gruppe über 26 Wochen und in der anderen Gruppe über 16 Wochen durchgeführt wurden, könnte man den Funktionszustand des RES nach dieser Zeit nur durch die letzten Versuche beurteilen. In jeder Gruppe liegen aber nur die Werte von zwei Kaninchen vor. Diese Zahl ist zu gering, um eine signifikante Aussage zu machen, und man muß außerdem dabei berücksichtigen, daß diese letzten Werte zum Teil in einem niedrigen Bereich liegen (z.B. ein Anstieg von 20,5% auf 25,8%), und daß in diesem Bereich die Genauigkeit der Methode zur Bestimmung der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antikörper nachläßt, da nach LANG und MASSARRAT die Hemmkurve nach einer zusammengesetzten Exponentialfunktion verläuft.

So kann man nur feststellen, daß auch bei den zeitlich letzten Werten in beiden Gruppen ein Anstieg der Antikörper zu verzeichnen ist. Das spricht gegen eine Blockade des RES durch Plasmaexpander. Zur Signifikanzberechnung wurden alle Werte herangezogen, auch die Werte, die sich nach der ersten Boosterinjektion mit einem Plasmaexpander ergaben.

Zur Signifikanzberechnung wurde jeweils der Anstieg vom Tage der Boosterinjektion bis zum 10. Tage nach

der Boosterinjektion verwendet. Der Wert am 6. Tage nach der Boosterinjektion wurde unberücksichtigt gelassen. Es werden die Anstiege der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren in Prozent nach einer Boosterinjektion ohne Plasmaexpander mit den Anstiegen in Prozent nach einer Boosterinjektion und der gleichzeitigen Gabe von einerseits Periston und andererseits Macrodex verglichen.

Nach einer Boosterinjektion ohne Plasmaexpander stieg die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren gegen die C-GOT aus Schweineherz um folgende Werte:

Tier Nr.	1	2	3	4	5
Bei der ersten Boosterinjektion	6,6%	9,3%	5,0%	48,4%	20,9%
Bei der zweiten Boosterinjektion	13,3%	1,1%	14,6%	59,3%	5,2%
=====					
Tier Nr.	6	7	8	9	10
Bei der ersten Boosterinjektion	16,5%	20,2%	8,4%	55,8%	-8,2%
Bei der zweiten Boosterinjektion	18,8%	12,9%	12,1%	59,4%	7,8%
=====					

Der Mittelwert $\bar{x}''$ beträgt 19,4 bei einer Größenordnung $n_2 = 20$.

Bei den Boosterinjektionen und der gleichzeitigen i.v.-Injektion von Periston über 10 Tage wurden folgende Anstiege für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren bestimmt:

1. 12,7 %, 2. 11,4 %, 3. 16,2 %, 4. 16,2 %, 5. 9,3 %
 6. 13,0 %, 7. 11,0 %, 8. 6,3 %, 9. 8,1 %, 10. 11,1 %
 11. 5,3 %.

Der Mittelwert $\bar{x}'$ in dieser Gruppe beträgt 11 bei einer Größenordnung n_1 von 11.

Bei den i.v.-Injektionen von Macrodex über 10 Tage und den Boosterinjektionen ergaben sich folgende Anstiege für die enzymaktivitätshemmende Wirkung der Antiseren:

1. 10,5%	2. 8,0%	3. 11,7%	4. 57,7%	5. 10,4%
6. 9,9%	7. 4,3%	8. 14,2%	9. 21,1%	10. 10,4%

Der Mittelwert $\bar{x}'$ in dieser Gruppe beträgt 15,6 bei einer Größenordnung n_1 von 10.

Die Berechnung wurde (mit Unterstützung von Herrn Dr. TRAUTNER, Institut für Med. Statistik, Marburg/L) nach der Formel $t = \frac{\bar{x}' - \bar{x}''}{s_D}$ durchgeführt. Dabei

bedeutet $\bar{x}'$ der oben angeführte Mittelwert für einen der beiden Plasmaexpander und $\bar{x}''$ der Mittelwert der Anstiege ohne Plasmaexpander.

s_D wurde nach der Formel $s_D^2 = s^2 \frac{n_1 + n_2}{n_2 \cdot n_1}$ berechnet, nachdem s^2 aus der Formel

$$s^2 = \frac{\sum (x_i' - \bar{x}')^2 + \sum (x_i'' - \bar{x}'')^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

berechnet worden war.

Dabei bedeutet n die jeweilige Größenordnung, für x_i' wurde jeweils einer der Anstiege bei der Gabe eines Plasmaexpanders eingesetzt und für x_i'' wurde jeweils ein Anstieg nach einer Boosterinjektion ohne Plasmaexpander eingesetzt.

In der Gruppe, die Periston erhalten hatte, wurde ein t von 1,483 errechnet. Nach den t -Tabellen nach dem Student-Test aus Biometrika Tables for Statisticians liegt der kritische Wert zu 10 % bei 1,699. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Anstiegen der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren gegen Schweineherzcytoplasma-GOT nach Boosterinjektionen und nach Boosterinjektionen und der Gabe von Periston läßt sich nicht nachweisen.

In der anderen Gruppe, die Macrodex erhalten hatte, wurde ein t von 0,571 berechnet. Nach den t -Tabellen liegt der kritische Wert zu 50 % bei 0,686. Auch hier läßt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen - mit und ohne Macrodex - nicht nachweisen.

XI. Diskussion.

Bei einem Blutverlust kann ein Blutersatz nur durch die Gabe von Vollblut erreicht werden. Einen künstlichen Ersatz für Blut oder die Blutflüssigkeit gibt es nicht. Beim Volumenmangel, wenn ein Mißverhältnis zwischen Fassungsvermögen des Kreislaufes und seiner Füllung besteht, leisten Plasmaexpander auf Grund ihres osmotischen Druckes Hervorragendes, obwohl ihnen wichtige biologische und chemische Eigenschaften des Blutes fehlen. Ebenso sind sie nicht mehr aus der Therapie wegzudenken, wenn es gilt, bei schweren Blutverlusten die Zeit zu überbrücken, bis eine Konserve zur Verfügung steht. Denn beim Kreislaufversagen ist das Leben nicht wegen der mangelnden Sauerstoffträger, sondern wegen der mangelnden Kreislauffüllung gefährdet.

Einen idealen künstlichen Plasmaexpander, der die Funktion des Plasmas übernehmen könnte und eine etwa gleichlange Verweildauer im Kreislauf wie das Plasma hat, gibt es nicht. Die zur Diskussion stehenden Plasmaexpander Macrodex und Periston stellen mit ihrem mittleren Molekulargewicht einen Kompromiß zwischen einer zu schnellen Ausscheidung durch die Niere und einer möglichen Speicherung in den Zellen des RES und damit einer möglichen Schädigung dieses Systems dar. Die Durchtrittsgeschwindigkeit durch die Nieren steht im umgekehrten Verhältnis zum Molekulargewicht. Bei Erhöhung des Molekulargewichtes kommt es zu einer Schädigung des RES, wie SCHMID mit Dextranfraktionen über 150000 zeigen konnte.

So liegt der Nachteil der heute verwendeten Plasmaexpander darin, daß sie kein Blutflüssigkeitsersatzmittel darstellen, da sie nicht die chemischen und biologischen Funktionen übernehmen können. Dieser Nachteil wird aber durch den Vorteil der Volumentherapie weit überwogen und so ist es heute nicht erforderlich, in bestimmten Situationen zur Blutkonserve oder zu Kreislaufmitteln zu greifen, wenn ein Plasmaexpander für die Therapie ausreicht, bzw. den Kreislaufmitteln überlegen ist.

Mit Recht wird auch immer wieder auf die Gefahren der Blutübertragung hingewiesen, besonders auf die Gefahr der Serumhepatitis, da den Blutbanken kein ausreichender Screening-Test zur Verfügung steht. Die Häufigkeit der Serumhepatitis nach Transfusionen wird nach neueren Untersuchungen bei der Übertragung einer Blutkonserve mit 7,2 Prozent, bei zwei Blutkonserven mit 15,4 Prozent und bei der Übertragung von drei Konserven sogar mit 22 Prozent angegeben (CREUTZFELD und Mitarbeiter, 1966, aus: Deutsches Ärzteblatt 1968, Seite 72).

Diese Gefahr besteht bei den Plasmaexpandern nicht, sondern sie liegt auf einem anderen Gebiet. Beim Periston handelt es sich um einen völlig körperfremden Stoff, der nach den Untersuchungen von RAVIN und Mitarbeiter im menschlichen Körper absolut stoffwechselinert sein dürfte. Macrodex wird nach den Untersuchungen von AMMON im menschlichen Körper abgebaut, es ist aber nicht bekannt, in welcher Zeit. Beide Stoffe werden von den Zellen des RES aufgenommen.

Morphologische Untersuchungen, besonders aus der Zeit, als noch mit höheren, mittleren Molekulargewichten gearbeitet wurde, und auch Untersuchungen zur Funktion des RES sprachen dafür, daß es bei einer Überdosierung zu einer Beeinträchtigung der Funktion des

RES kommen könnte und man sprach von einer Blockade des RES durch Plasmaexpander.

Nach LINDNER handelt es sich bei dem leidigen Begriff der Blockade des RES um ein typisches Scheinproblem im Rahmen der Plasmaexpanderforschung, und es sei häufig unmöglich oder einfach falsch, aus einem morphologischen Bild Rückschlüsse auf den Funktionszustand des Systems zu ziehen. Er vertritt auf Grund seiner morphologischen Befunde die Ansicht, daß eine Blockade des RES weder bei der gebräuchlichen Anwendung von Plasmaexpandern, noch bei extremer Überdosierung auftritt, denn eine solche Annahme widerspricht gerade der spezifischen Arbeitsweise des RES. Er sieht nach jedem Anreiz zu einer Stoffaufnahme eine Proliferation der reticulären und endothelialen Zellen, und bei der reichlichen Gabe von Plasmaexpandern ist stets nur ein Bruchteil der Zellen des RES mit der Stoffaufnahme beschäftigt. Eine echte Speicherung oder Restbefunde konnte LINDNER sowohl beim Periston, als auch beim Macrodex nicht feststellen. Und so vertritt er die Ansicht, daß, was früher bei anderen Molekulargewichts- und Größenverhältnissen noch diskutierbar war, für die heute verwendeten Plasmaexpander nicht mehr gilt.

Trotzdem wurde noch 1966 vor der Gabe von mehr als einem Liter Periston gewarnt. Auch auf dem Begleitzettel zum Periston wird empfohlen, die Menge von 3000 ccm in einem Behandlungsintervall nicht zu überschreiten. Auf Anfrage teilte die wissenschaftliche Abteilung der Firma Bayer mit, daß diese Empfehlung auf der Erfahrung beruht, "daß bei Anwendung größerer Mengen von Plasmaexpandern ganz allgemein, die Zahl der sauerstofftragenden Erythrozyten zu gering und damit die Versorgung der lebenswichtigen Organe in Frage gestellt

wird, und somit, wenn keine Normalisierung der Kreislaufverhältnisse zu erreichen war, eine Bluttransfusion unbedingt angezeigt ist."

In der Praxis muß aber die Menge von 3000 ccm, bei der gleichzeitigen Gabe von Bluttransfusionen, besonders im Bereich der Chirurgie, häufig überschritten werden. Über solche Fälle wird noch heute diskutiert, ob doch eine Schädigung des RES möglich wäre, da die Aufnahme in den Zellen des RES von der Zeit, von der Menge und vom mittleren Molekulargewicht abhängig ist.

Auch die bekannten Arbeiten zur Funktion des RES (5, 8, 10, 11, 12, 13) können nicht eine Schädigung der Funktion des RES, bei der Gabe von Plasmaexpandern über eine lange Zeit, in großer Menge beweisen. So war es notwendig, den Funktionszustand dieses Systems über einen längeren Zeitraum zu überprüfen.

So wurde in den durchgeführten Versuchen in der einen Gruppe über 26 Wochen je Tier 200 ml MacroDEX und 200 ml Periston pro kg Körpergewicht und in der anderen Gruppe 200 ml Periston und 100 ml MacroDEX pro kg Körpergewicht über einen Zeitraum von 16 Wochen gegeben. Wenn man die empfohlene Dosis von 3000ml pro kg Körpergewicht, unter Zugrundelegung von einem Körpergewicht von 75 kg, berechnet und die Werte vergleicht, wurde die Dosis bei diesen Versuchen bis zu einem Zehnfachen überschritten.

Dabei zeigte sich auch bei den zeitlich letzten Versuchen ein Anstieg der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren. Dabei ist aber zu bedenken, daß diese Anstiege einen Anspruch auf größte Genauigkeit nicht erheben können, da die Genauigkeit der Methode im unteren Bereich nachläßt. Es läßt sich bei der Betrachtung der letzten vier Werte (je zwei für

Macrodex und Periston) nur sagen, daß trotz der langen Gabe und der verhältnismäßig hohen Dosis, es doch zu einem Anstieg der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren kommt, daß also der Organismus auf die Boosterinjektion mit dem Antigen durch die Bildung von Antikörpern antwortet.

Bei der Zusammenfassung aller Anstiege, der gleichzeitigen Injektion, sowohl von Macrodex, als auch von Periston, bei der Signifikanzberechnung, konnte kein signifikanter Unterschied zu den Anstiegen der Antikörper gegen die Schweineherz-C-GOT ohne die gleichzeitige Gabe von Plasmaexpandern festgestellt werden.

So wird aus den Versuchsergebnissen die Schlußfolgerung gezogen, daß die Gabe von Macrodex und Periston bei dieser Dosierung und der wiederholten Gabe, keinen Einfluß auf die Funktion des RES haben.

Die Meinung, die vor oder zu häufiger Anwendung der Plasmaexpander in Hinblick auf eine mögliche Schädigung des RES, die von einer möglichen mangelnden Abwehrbereitschaft bis zur Blockade des RES reichen, können durch die Versuchsergebnisse nicht bestätigt werden, da kein signifikanter Unterschied zwischen den Anstiegen der enzymaktivitätshemmenden Wirkung der Antiseren nach den Boosterinjektionen und den Injektionen mit der gleichzeitigen Gabe von Plasmaexpandern festgestellt werden konnte. .

Z U S A M M E N F A S S U N G :

=====

In der vorliegenden Arbeit wurde eingehend, an Hand anderer Untersuchungen, auf das Problem einer fraglichen Speicherung der Plasmaexpander Periston und Macrodex in den Zellen des reticuloendothelialen Systems eingegangen. Besonders beim Macrodex wird neuerdings eine echte Speicherung abgelehnt, da es als Polysaccharid von dem Ferment Dextranase abgebaut wird.

Da trotzdem, besonders auf Grund älterer Arbeiten, die sich auf Untersuchungen mit heute nicht mehr üblichen hochmolekularen Plasmaexpandern stützen, von einer Beeinträchtigung der Funktionen des RES durch Plasmaexpander gesprochen wird, war eine erneute Untersuchung unter besonderen Bedingungen erforderlich.

Es wurden Untersuchungen der Antikörperbildung als Teilfunktion des RES durchgeführt.

Als Kriterium für diese Teilfunktion des RES wurde bei Kaninchen die Bildung von Antikörpern gegen die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma verwendet. Die Antikörper wurden nach der von LANG und MASSARRAT angegebenen Methodik bestimmt.

Bei der Signifikanzberechnung konnte kein Unterschied zwischen den Anstiegen der Antikörper auf eine Boosterinjektion und der gleichzeitigen Gabe von Plasmaexpandern und den Anstiegen der Antikörper ohne die Gabe von Plasmaexpandern festgestellt werden.

Ein Hinweis auf eine Beeinträchtigung der Funktion des RES durch Macrodex oder Periston konnte durch diese Untersuchungen nicht gefunden werden.

Literaturverzeichnis

1. AMMON, R.: Das Vorkommen von Dextranase im menschlichen Gewebe.
Enzymologia 25, 245-251 (1963)
2. AMMON, R. und E. DEPNER: Ausscheidung und Verhalten verschiedener Polyvinylpyrrolidon-typen im Organismus.
Z.ges.exp.Med. 128, 607-628 (1957)
3. AMMON, R. und W. MÜLLER: Der Einfluß hoher Periston-Gaben auf den Kaninchenorganismus unter besonderer Berücksichtigung der Speicherorgane.
Dtsch.Med. Wschr. 15, 465-467 (1949)
4. AMMON, R. und G. MOHN: Der fluoreszenzmikroskopische Nachweis des Polyvinylpyrrolidons.
Acta histochem. 6, 66-76 (1958)
5. BARFUSS, F. und O. EICHLER: Periston bei wiederholter Darreichung .
Arch.exp.Path.Pharmak. 206, 346 (1949)
6. BARGMANN, W.: Über Milzveränderungen nach Zufuhr des Blutflüssigkeitsersatzes Periston.
Virchows Archiv path.Anat. 314, 162-166 (1947)
7. BARNER, F.R.: Über Eisen und Periston-(Kollidon-) Speicherung.
Z.ges.inn.Med. 23, 1074 (1952)
8. BURRI, C. und M. ALLGÖWER: Zur Funktion des reticulo-endothelialen Systems (RES) nach Plasmaexpandern.
Helvetia Chir.Acta 535-539 (1964)
9. CAMPBELL, H.: Die Ausscheidung von Polyvidone durch die normale menschliche Niere.
Journées Transfusionelles,
12. und 13.9.1953, Genf.
10. DIECKHOFF, J.: Der Einfluß der Kollidon-Infusion auf die Antikörperbildung nach aktiver Typhus-, Tetanus- und Diphtherie-Immunisierung.
Z. Immun.-Forschung 111, 226 (1954)

11. FISCHER, K.: Hat Polyvinylpyrrolidon (Kollidon) einen Einfluß auf die Bildung, den Abbau bzw. die plazentare Passage von Isoantikörpern?
Z. Immun.-Forsch. 113, 186-200 (1956)
12. FRESEN, O. und H. WEESE: Das gewebliche Bild nach Infusionen verschiedener Kollidon-Fraktionen (Periston N, Periston, hochvisköses Periston) beim Tier.
Tier. Beitr.pathol.Anat. 112, 47-62 (1952)
13. FRIMMER, H.: Über das Verhalten der reticulo-endothelialen Clearance nach Infusion von kolloidalen Blutersatzflüssigkeiten.
Arch.exp.Path.Pharmak. 213, 320-326 (1953)
14. GALL, E.A. u. Mitarb.: Leberschäden nach i.v. Anwendung von Polyvinylpyrrolidon (PVP)
Amer.J.clin.Path. 23, 1187-89 (1954)
15. GLOBIG, W.: Über die Organ- und Artspezifität von Antikörpern gegen Kaninchen-Muskel-Aldolase.
Clin.Chim.Acta 12, 477-483 (1965)
16. GRÖNWALL, A. und B. INGELMANN:
Acta physiol.scand. 7, 97-101 (1944)
17. HECHT, G. und W. SCHOLTAN: Über die Ausscheidung von Polyvinylpyrrolidon durch die normale Niere.
Z.ges.exp.Med. 130, 577-603 (1959)
18. HECHT, G. und H. WEESE: Periston, ein neuer Blutflüssigkeitersatz.
Münch.med.Wschr. 1, 11 (1943)
19. HECKNER, F. und GEHLMANN, F.: Cytologische Beobachtungen zur Kollidonspeicherung.
Z.ges.exp.Med. 127, 213-226 (1956)
20. HELLMANN, L.: Vorläufiger Bericht über den Stoffwechsel von C-14-markiertem PVP und Dextran.
Proc.Nat.Acad.Sc.U.S.-Bull.Nat.Res.Counc. Washington Oktober 1951
21. HERRLICH, A.: Handbuch der Schutzimpfungen,
Springer 1965

22. HÜSSELMANN, H.: Speicherungserscheinungen beim Menschen nach Periston.
Klin.Wschr. 33/34, 801-808 (1952)
23. LANG, N.: Antikörper gegen Transaminasen (Ein Beitrag zur Organantikörperforschung)
Int.Arch.Allergy 26, 345 (1965)
24. LANG, N: Latextest zur Bestimmung von Transaminasen und Transaminasen-Antikörpern.
Klin.Wschr. 44, 482-488 (1966)
25. LANG, N. und S. MASSARRAT: Versuche zur immunologischen Enzymbestimmung mit Transaminasenantikörpern.
Verh. Dtsch.Ges.inn.Med. 68, 275 (1962)
26. LANG, N. und S. MASSARRAT: Immunologie und Enzymkinetik der Transaminasen verschiedener Organe und Spezies.
Proc. 12th Colloq."Protides of the biol.fluids", Bruges 1964 p. 246
Amsterdam: Elsevier Publ.Comp. 1964
27. LANG, N. und S. MASSARRAT: Immunologische Untersuchungen an Transaminasen.
Verh. Dtsch.Ges. Physiol.Chem. 15.
Mosbacher Colloquium, Immunchemie 1964 p. 210
28. LANG, N. und S. MASSARRAT: Immunologie und Enzymkinetik der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase.
II. Mitt. Untersuchungen zur Isoenzym-, Organ- und Speziespezifität.
Klin.Wschr. 43, 597 (1965)
29. LINDNER, J.: Morphologische Untersuchungen über das Schicksal von Plasmaexpandern.
Schock und Plasmaexpander, 23-64 (1964).
30. MARTIUS und PREDIGER: Dtsch.med.Wschr. 31/32,
1134 (1955)
31. MASSARRAT, S. und N. LANG: Organspezifität von Antikörpern gegen Herzmuskeltransaminasen.
Tranact. 7th Intern.Congr.Intern. Med. 508 (1962)

32. MASSARRAT, S. und LANG, N.: Immunologie und Enzymkinetik der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase. I. Mitt. Untersuchungen zur Kinetik der Hemmwirkung von Transaminasen-Antikörper.
Klin.Wschr. 43, 510 (1965)
33. MASSARRAT, S. und N. LANG: Immunologie und Enzymkinetik der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase. III. Mitt. Immunhemmung der Transaminasen im Serum von Leberkranken und von Patienten nach Herzinfarkt.
Klin.Wschr. 43, 602 (1965)
34. NUSSBAUMER, P.A. und P. AMACKER: Die Plasmaersatzmittel.
Schweiz.Apoth.-Ztg. 104, 359-367 (1966)
35. RAVIN, H.: Polyvinylpyrrolidone as a plasma expander.
New Engl.J.Med. 247, 921-929 (1952)
36. RIEDEL, G. und K. ZIPF: Tierexperimentelle Untersuchungen über Blutersatzmittel.
Arch.exp.Path.Pharmak. 203, 25-33 (1944)
37. SCHALLOCK, G.: Funktion und Struktur des lymphoretikulären Systems.
Regensburger Jahrbuch f. ärztl. Fortbildung IV, 1954/55, Friedrich-Karl-Schattauer-Verlag Stuttgart.
38. SCHÖN, H.: Organveränderungen beim Säugling nach Zufuhr von Periston.
Klin.Wschr. 27, 463-468 (1949)
39. STEELE, R. und Mitarb.: The fate of intravenously administered polyvinylpyrrolidone.
Ann.N.Y. Acad. Sci. 55, 479-484 (1952)
40. WEESE, H.: Therapeutische Möglichkeiten mit Blutersatzstoffen.
Münch.med. Wschr. 95, 456-459 (1953)

Meine akademischen Lehrer waren

in Marburg/Lahn

die Herren Professoren

Berendes, Bock, Bücher, Dimroth, du Mesnil de Rochemant
Exner, Förster, Hartmann, Heberer, Heite, Hensel,
Heuser, Hornung, Huber, Jakob, Kalkoff, Linneweh,
Linzbach, Mahr, Mattes, Meyer, Müller, Niessing,
Petry, Pirson, Prinz, Rollhäuser, Schmid, Schwaiger,
Seidel, Siegert, Streicher, Walcher

und die Herren Dozenten

Beckmann, Gross, Lang, v. Manger-König, Maurath,
Neubauer, Nieth, Rosenthal, Schmitz, Stein, Würterle.

Herrn Professor Dr. M. Schwaiger danke ich für
die freizügige Arbeitsmöglichkeit an der
Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn,
Herrn Professor Dr. H.J. Streicher für die
Überlassung des Themas und für seine Beratung
bei der Planung und Ausarbeitung.

Lebenslauf.

Am 13.9.1935 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Dr.med. Dietrich Bergholter und seiner Ehefrau Herta, geb. Scheel, in Stendal geboren. Meine Jugendjahre verlebte ich im Hause meiner Eltern in Tangermünde. Dort besuchte ich die Grundschule und anschließend die Hinrich-Brunsborg-Oberschule. Am 9. Junie 1953 legte ich mein Abitur ab. Danach studierte ich an der Technischen Hochschule in Dresden 5 Semester Leichtbau (Flugzeugbau).

Ab Sommer-Semester 1956 habe ich in Marburg/Lahn Medizin studiert und nach 11 Semestern 1962 mein Staatsexamen abgelegt. Nach der Approbation habe ich als Arzt am Kreiskrankenhaus Ziegenhain und an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg gearbeitet.

Zur Zeit bin ich am Marien-Hospital Euskirchen tätig.

